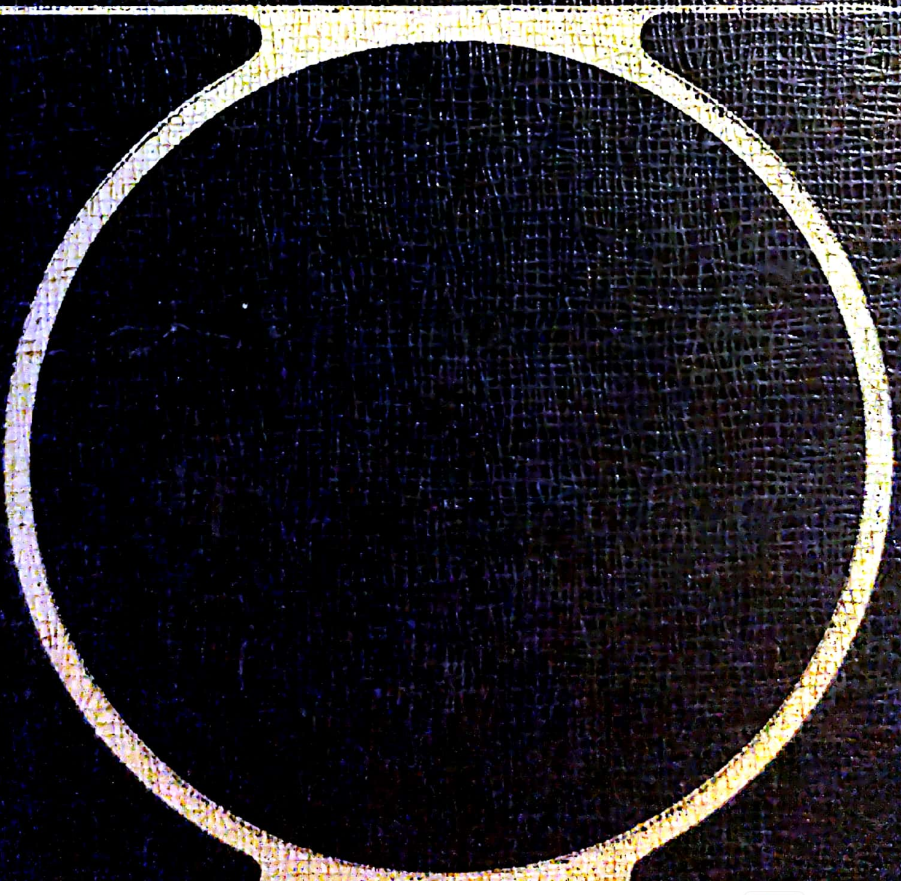
EUGENIA DUCA MIHAI DUCA
GEORGE FURTUNESCU

Microbiologie medicală



MINISTERUL EDUCAȚIEI ȘI ÎNVĂȚĂMÎNTULUI
INSTITUTUL DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE – IAȘI

Prof. dr. EUGENIA DUCA Prof. dr. M. DUCA
Conf. dr. G. FURTUNESCU

Microbiologie medicală

Ediția a II-a.

EDITURA DIDACTICĂ
ȘI PEDAGOGICĂ
BUCUREȘTI – 1979

PREFAŢĂ LA EDIŢIA A II-A

Ediţia a doua a manualului „Microbiologie Medicală" aduce modificări prin conţinut şi mod de prezentare. Alături de cele patru părţi care alcătuiau prima ediţie, reprezentate de

Noţiuni de microbiologie generală; Infecţia şi apărarea antiinfecţioasă; Bazele imunologiei şi imunopatologiei; Bacteriologie medicală, *ediţia prezentă, realizată prin colaborare, adaugă încă trei părţi*:

Virusologie medicală* ; Micologie medicală *şi* Protozoologie medicală.

Este astfel întregit conţinutul microbiologiei medicale.

Ediţia de faţă se adresează în primul rînd studenţilor facultăţilor de medicină care fac cunoştinţă cu microbii şi implicaţiile lor în patologie (infecţii, intoxicaţii, fenomene de sensibilizare alergică, implicaţiile virusurilor în patogenia malformaţiilor congenitale şi oncogeneză), în epidemiologie, în poluarea şi contaminarea mediului extern, pregătiţi pentru ca — cel puţin în prima etapă a activităţii lor — să corespundă funcţiei de medic de medicină generală pentru adulţi şi copii.

Tratamentul şi mai ales prevenirea infecţiei reprezintă componenta principală a problematicii cu care sînt confruntaţi medicii de medicină generală ţinînd seama de faptul că morbiditatea prin infecţii ocupă încă cel mai mare loc în morbiditatea generală.

Cartea enunţă cadrul metodic actual de interes practic pentru diagnosticul microbiologic şi imunodiagnostic în „laboratorul clinic de microbiologie" *şi în* „laboratorul de microbiologie din centrele sanitaro-antiepidemice".

Prin conţinutul ei, cartea este un ghid atît pentru problemele de diagnostic ale patologiei infecţioase, confruntată mai ales cu infecţia prin microorganismele cu mare patogenitate, ca şi pentru numeroasele specialităţi medicale şi chirurgicale confruntate cu problematica, încă delicată, a diagnosticului şi tratamentului infecţiilor date de virusuri, micete, dar mai ales de bacterii condiţionat patogene şi accidental patogene.

În ce priveşte modul de prezentare, s-a ţinut seama în primul rînd de faptul că din anul 1975—1976 microbiologia se predă în anul II de studii. Ca urmare, atît capitolele de microbiologie generală, imunologie, infecţie şi apărare antiinfecţioasă, cît şi capitolele de microbiologie specială se referă numai la proprietăţile majore ale microorganismelor de interes medical.

Ţinînd seama de spaţiul avut la dispoziţie, în raport cu numărul de ore afectat cursului de Microbiologie şi Parazitologie (75 ore şi 10 ore de imunopatologie, curs facultativ), am subliniat cu precădere acele noţiuni teoretice care fundamentează numeroasele practici medicale de ordin microbiologic şi imunologic, care fac obiectul lucrărilor practice la disciplinele de micro-

---

* Apărută în primă ediţie sub titlul „Inframicrobiologie", în 1965, în Editura didactică şi pedagogică.

biologie și care sînt detaliate ulterior în timpul stagiilor de laborator la toate disciplinele clinice, medicale și chirurgicale, la epidemiologie, la igienă comunală, școlară și a alimentației :

- *metodologia sterilizării și dezinfecției ;*
- *metodologia lucrului aseptic în laboratoare și în spitale ;*
- *recoltarea produselor patologice pentru diagnostice microbiologice și recoltarea serului pentru diagnostice imunologice ;*
- *identificarea principalelor microorganisme (bacterii, virusuri, fungi și protozoare) de interes medical ;*
- *metodologia diagnosticului bacteriologic al principalelor produse patologice ;*
- *testarea sensibilității bacteriilor la antibiotice și determinarea concentrației antibioticelor în umori ;*
- *metodologia diagnosticului virusologic și serodiagnosticului în viroze ;*
- *diagnosticul de laborator al principalelor viroze ;*
- *metodologia diagnosticului micozelor profunde și al dermatomicozelor ;*
- *metodologia diagnosticului parazitozelor ;*
- *metodologia microbiologică pentru cercetarea gradului de poluare microbiană a mediului extern*

Am acordat o deosebită atenție cu ocazia descrierii bacteriilor enunțării factorilor de patogenitate structurali și excretați și a mecanismelor prin care intervin în determinarea alterării de ordin infecțios, toxic sau/și alergic, noțiuni care constituie baza teoretică pentru înțelegerea patogeniei bolilor infecțioase, toxiinfecțiilor, complicațiilor alergice acute și tardive ale acestora. Am scos în evidență factorii care condiționează apariția procesului infecțios mai ales aceia de care depinde instalarea infecțiilor cu microorganisme condiționat și accidental patogene, reprezentînd cele mai numeroase din infecțiile actuale.

Am acordat spațiu acelor noțiuni de genetică bacteriană (mecanismele variației de sensibilitate la antibiotice) și selecție care, alături de prezentarea cît mai fidelă a spectrelor de sensibilitate naturală și de rezistență dobîndită a fiecărei bacterii, fundamentează cele mai importante aspecte ale terapiei științifice antiinfecțioase.

Variația patogenității și mai ales selecția tulpinilor periculoase sînt mici capitole care considerăm că permit o abordare științifică a metodologiei de prevenire a infecțiilor de spital.

Un loc important ocupă noțiunile de microbiologie generală, specială și de imunologie care servesc înțelegerii metodologiilor de profilaxie și combatere a infecției de spital și în masa populației prin proceduri igienico-sanitare și imunologice, metodologii complexe care urmează a fi dezvoltate în cadrul disciplinelor de epidemiologie și igienă.

Cartea de față, prezentată editurii în februarie 1978, a fost astfel concepută încît să fie utilă, teoretic și practic, și medicului care se specializează în epidemiologie, igienă, patologie infecțioasă și specialitățile clinice din care nu lipsesc capitole de patologie infecțioasă sau complicații postinfecțioase.

*

Adresăm mulțumiri, și pe această cale, pentru sprijinul tehnic competent și plin de bunăvoință, colegilor și colaboratorilor noștri biolog P. Gherasim, *asistent dr.* Gabriela Coman, *asistent* Argentina Colev, *asistent* Mariana Liscă *și inginer* Rodica Dragoslav.

CUPRINS

PREFAȚĂ LA EDIȚIA A II-a 3
CUPRINS 5
DEZVOLTAREA ISTORICĂ A MICROBIOLOGIEI ȘI IMUNOLOGIEI 23
Lista prescurtărilor folosite în text 33
Partea I: NOȚIUNI DE MICROBIOLOGIE GENERALĂ (E. Duca) 37
  I. **Obiectul microbiologiei și sistematica microorganismelor** 38
    A. *Noțiuni de taxonomie* 38
      1. Protozoa 42
      2. Mycetes 42
      3. Procaryotae (Bacterii) 42
      4. Vira 42
    B. *Microbiologia ca obiect de studiu* 43
      1. Microorganisme utile 43
      2. Microorganisme dăunătoare 43
    Bibliografie 44
  II. **Structura, funcționalitatea și aspectul microorganismelor procaryotae** 45
    A. Clasa *Bacteria* 47
      1. Nucleul bacterian 48
      2. Citoplasma 51
      3. Membrana citoplasmatică și mezozomii 54
      4. Peretele bacterian 55
      5. Capsula 58
      6. Cilii bacterieni 59
      7. Fimbrii sau pili 61
      8. Sporul bacterian 61
    B. Clasa *Rickettsias* 65
    C. Clasa *Mollicutes* 66
    Bibliografie 67
  III. **Metabolism bacterian** 68
    A. *Metabolism energetic* 68
      1. Bacterii fotosintetizante (Photobacteria) 68
      2. Bacterii chimiosintetizante (Scotobacteria) 69
    B. *Metabolism de sinteză* 71
      1. Bacterii chimiosintetizante lithotrofe 72
      2. Bacterii chimiosintetizante organotrofe 72

Bibliografie . . . 75
IV. Cultivarea bacteriilor . . . 77
  A. *Cultivarea pe gazde vii* . . . 77
  B. *Cultivarea pe medii artificiale* . . . 77
    1. Mediul de cultură . . . 77
    2. Scopul cultivării . . . 80
    3. Dinamica înmulţirii bacteriilor . . . 81
    4. Aspectul culturilor bacteriene . . . 84
Bibliografie . . . 86
V. Rolul şi răspîndirea microorganismelor în natură . . . 87
  A. *Rolul microorganismelor în natură* . . . 87
    1. Descompunerea materiei organice în natură . . . 88
    2. Circuitul elementelor chimice în natură . . . 89
  B. *Răspîndirea microorganismelor în natură* . . . 89
    1. Aspecte de microbiologie a solului . . . 90
    2. Aspecte de microbiologie a apei . . . 91
    3. Aspecte de microbiologie a aerului . . . 93
    4. Aspecte de microbiologie a alimentelor . . . 94
    5. Aspecte de microbiologie a medicamentului . . . 97
      a. Sterilitatea medicamentului . . . 98
      b. Apirogenitatea . . . 98
    6. Animalele ca sursă de contaminare . . . 99
    7. Flora normală a corpului uman . . . 99
      a. Flora rezidentă-normală . . . 101
      b. Flora flotantă . . . 102
  C. Distribuţia florei normale a corpului uman . . . 104
Bibliografie . . . 109
VI. Acţiunea agenţilor fizici asupra microorganismelor . . . 111
  A. *Căldura* . . . 112
  B. *Frigul* . . . 116
  C. *Uscarea şi liofilizarea* . . . 117
  D. *Acţiunea radiaţiilor* . . . 118
  E. *Ultrasunetele* . . . 119
  F. *Electricitatea* . . . 120
  G. *Presiunea osmotică* . . . 120
  H. *Presiunea mecanică* . . . 120
Bibliografie . . . 121
VII. Acţiunea agenţilor chimici asupra microorganismelor . . . 122
  A. *Dezinfectante, antiseptice, conservante* . . . 124
    1. Agenţi tensioactivi . . . 124
    2. Agenţi de denaturare a proteinelor . . . 126
    3. Inhibitori enzimatici . . . 126
    4. Dezinfectanţi gazoşi . . . 129
  B. *Chimioterapice* . . . 131
    1. Sulfamide . . . 131
    2. Chimioterapice cu indicaţii speciale pentru bacterii care determină infecţii urinare şi intestinale . . . 133
    3. Chimioterapice antituberculoase . . . 133
    4. Leprostatice . . . 134
Bibliografie . . . 134

- VIII **Principalele relații ecologice care se stabilesc între microorganisme** 135
  - A. *Comensalism* 135
  - B. *Simbioză* 135
  - C. *Sinergism* 136
  - D. *Parazitism* 136
    - 1. Bacteriofagia și fagul virulent 137
    - 2. Fagul temperat 139
  - E. *Antagonismul sau antibioza* 140
    - 1. Diferențe de vitalitate 140
    - 2. Antagonism nespecific 140
    - 3. Antagonsim specific 141
  - *Bibliografie* 142
- IX. **Antibiotice** 143
  - A. *Stabilirea spectrului natural antimicrobian al unui nou antibiotic* 144
  - B. *Spectrul de sensibilitate naturală a speciilor* 146
  - C. *Rezistența dobîndită a bacteriilor și spectrul de sensibilitate reală a speciilor* 146
  - D. *Stabilirea sensibilității reale a tulpinii infectante* 147
    - 1. Testul de sensibilitate la antibiotice sau antibiograma 147
    - 2. Dozarea concentrației de antibiotice în ser 148
    - 3. Nivelul de eficiență inhibitorie 148
    - 4. Determinarea activității bactericide a serului 149
  - E. *Efectele antibioticelor asupra microorganismelor* 149
  - F. *Mecanisme de acțiune antimicrobiană a antibioticelor* 150
  - G. *Clasificarea antibioticelor în raport cu spectrul antimicrobian natural* 152
    - 1. Antibiotice antibacteriene 153
    - 2. Antibiotice antifungice 158
  - H. *Criterii microbiologice de utilizare a antibioticelor* 158
  - *Bibliografie* 161
- X. **Genetica bacteriană** 163
  - A. *DNA, suportul material al eredității* 163
  - B. *Ereditatea la bacterii* 164
  - C. *Variabilitatea genetică la bacterii (mecanisme)* 165
    - 1. Mutația 165
    - 2. Recombinarea cromozomială (transferul de gene) 167
    - 3. Transferul de plasmide 171
  - D. *Selecția variantelor și transformarea în tulpini* 173
    - 1. Selecția variantelor cu patogenitate crescută și transformarea în tulpini 174
    - 2. Selecția bacteriilor mono- și multirezistente la antibiotice 174
    - 3. Selecția de „tulpini periculoase de spital" 175
  - *Bibliografie* 176

Partea a II-a: INFECȚIA ȘI APĂRAREA ANTIINFECȚIOASĂ (E. Duca) 177

- XI. **Infecția** 178
  - A. *Alterări de etiologie bacteriană* 180
    - 1. Intoxicații și toxiinfecții bacteriene 180
    - 2. Infecții invazive 180
    - 3. Fenomene de sensibilizare 182

B. *Posibilități de evoluție a infecției bacteriene* 182
1. Infecția inaparentă 182
2. Boala infecțioasă sau infecția aparentă 185
C. *Etapele bolii infecțioase* 186
D. *Noțiuni de epidemiologie a infecției* 188
1. Surse de infecție 188
2. Căi de contaminare 188
3. Tipuri de evoluție epidemiologică a infecției 189
4. Cauze de dispariție și reapariție a „infecției de spital" 189
Bibliografie 195
XII. Patogenitatea bacteriilor și factori de patogenitate 197
A. *Virulență și factori de virulență* 197
1. Factori de colonizare și pătrundere 198
2. Factori de invazie 198
B. *Toxine bacteriene* 201
1. Exotoxine 202
2. Toxine legate de corpul bacterian 202
C. *Factori de sensibilizare* 203
Variația genetică a gradului de patogenitate 203
Bibliografi 205
XIII Apărarea antiinfecțioasă 206
A. *Rezistența antiinfecțioasă înnăscută, specifică speciei animale* 206
B. *Rezistența antiinfecțioasă prin factori nespecifici* 207
1. Factori nespecifici externi 208
2. Factori nespecifici interni 211
C. *Imunitatea antiinfecțioasă sau rezistența dobîndită* 215
Factori care influențează rezistența organismului la infecție 216
Bibliografie 217
XIV. Condiționarea patogenității 219
1. Microorganisme nepatogene 220
2. Microorganisme patogene 220
Bibliografie 224
Partea a III-a: BAZELE IMUNOLOGIEI ȘI IMUNOPATOLOGIEI (E. Duca, M. Duca) 225
XV. Antigene 226
A. *Condițiile antigenității și imunogenității* 227
1. Antigen, substanță străină 227
2. Antigen, natura chimică 231
3. Antigen, greutate moleculară 232
4. Calea de pătrundere a antigenelor 232
5. Persistența în organism 233
6. Doze antigenice 233
7. Ritmul administrării antigenelor 233

B. *Specificitatea antigenelor* 234
C. *Adjuvanţi şi potenţiatori nespecifici ai răspunsului imunologic* 236
D. *Structura antigenică a bacteriilor* 237
1. Antigene şi haptene de specificitate 238
2. Antigene ca factori de patogenitate 238

Bibliografie 239

XVI. Sistemul celular imunocompetent (SCIC). Imunogeneza 241
A. *Celule cu competenţă imunologică* 241
B. *Originea şi maturarea celulelor imunocompetente* 242
C. *Manifestări fundamentale ale SCIC* 244
1. Toleranţa imunologică 245
2. Răspunsul imunologic şi respingerea antigenului non—self 246

Bibliografie 247

XVII. Anticorpogeneza 249

A. *Modificări celulare care preced apariţia anticorpilor* 249
1. Modificări celulare consecutive stimulului antigenic primar 249
2. Modificări celulare consecutive stimulului antigenic secundar 252
B. *Teorii privind mecanismul de sinteză al anticorpilor* 253

Bibliografie 255

XVIII. Anticorpi 256

A. *Imunoglobulinele (Ig). Anticorpi umorali* 256
1. Molecula IgG. Structura, funcţii 257
2. Molecula IgM 260
3. Molecula IgA 261
4. Molecula IgD 261
5. IgE sau reagine 261
B. *Anticorpi celulari, limfocite-T specific sensibilizate (Lss)* 264

Bibliografie 266

XIX. Mecanismele imunităţii antiinfecţioase 268
Cooperarea cu factori nespecifici 268
A. *Imunitate umorală* 268
1. Neutralizarea moleculelor de exotoxine şi agresine 269
2. Imunitatea umorală antibacteriană 269
B. *Imunitatea mediată de celule* 270
C. *Clasificarea imunităţii antiinfecţioase în raport cu modalităţi de dobîndire* 274

Bibliografie 278

XX. Sensibilizare alergică 279
Faza imunologic-specifică declanşantă a fenomenelor imuno-patologice. Fenomene de sensibilizare de etiologie microbiană 279

A. *Noţiuni de bază* 279
1. Primele fenomene experimentale de sensibilizare 279
2. Primele fenomene de sensibilizare descrise la om 280

3. Condiţia majoră a apariţiei fenomenelor de sensibilizare 281
4. Terminologie 281
5. Variaţia manifestărilor clinice de sensibilizare, condiţionări 282
B. *Clasificare în raport cu anticorpul implicat şi cu mecanismul declanşant* . 283
1. Reacţia de sensibilizare tip I, anafilactic 284
2. Reacţia de sensibilizare tip II,citotoxic-citolitic 285
3. Reacţia de sensibilizare tip III, sindromul complexelor ,,toxice" 286
4. Reacţia de sensibilizare tip IV, mediată de celule 287
C. *Fenomene de sensibilizare cu etiologie bacteriană* 288
1. Sensibilizări bacteriene de tip întîrziat 288
2. Sensibilizări la antigene streptococice 288
3. Reacţii la ,,Endotoxină" (,,E") 289
a. Fenomene experimentale la ,,endotoxină" 290
b. Fenomene clinice la ,,endotoxină" 291
D. *Teste de diagnostic a stărilor de sensibilizare* 292
1. Teste in vivo 292
a. Teste de sensibilizare activă 292
b. Transferul pasiv al stării de sensibilizare 293
2. Teste in vitro 294
a. Teste serologice pentru depistarea alergenului. 294
b. Teste cu monocite, pentru diagnosticul sensibilizărilor de tip întîrziat 294
E. *Profilaxia stărilor de sensibilizare* 295
F. *Terapia stărilor de sensibilizare* 295
Bibliografie 297

Partea a IV-a: BACTERIOLOGIE MEDICALĂ, CLINICĂ, EPIDEMIOLOGICĂ ŞI SANITARĂ (E. Duca, M. Duca) 299

XXI. **Familia micrococaceae** 301
Genul staphylococcus 302
1. Morfologie, colorabilitate 302
2. Cultivare. 303
3. Caractere biochimice. 303
4. Vitalitate 303
5. Structura antigenică şi factori de patogenitate 304
a. Antigene şi haptene de specificitate 304
b. Factori de patogenitate la *S. aureus* 305
c. Variaţia patogenităţii 306
6. Habitat, contaminare, purtători 307
7. Boli stafilococice 307
a. Infecţii date de *S. epidermidis* 307
b. Boli date de *S. aureus* 308
8. Rezistenţă şi imunitate antistafilococică. 310
9. Diagnostic 311
a. Diagnostic de infecţie la bolnav 311
b. Diagnostic în scop epidemiologic 313

10. Terapie . . . 314
11. Profilaxie . . . 315

Bibliografie . . . 316

XXII. Familia streptococcaceae . . . 319

Genul streptococcaceae . . . 320

Clasificări . . . 320

a. Clasificarea streptococilor pe baza tipului de hemoliză . . . 320
b. Clasificarea antigenică . . . 320
c. Clasificarea Sherman . . . 322

A. *Streptococcus pyogenes, serogrup A* . . . 324
1. Toxina și toxiinfecția scarlatinoasă sau scarlatina . . . 325
2. Factori de virulență și infecții streptococice . . . 325
a. Factori celulari . . . 327
b. Exoenzime-agresine . . . 327
3. Factori de sensibilizare și boli poststreptococice alergice . . . 330
a. Glumerolonefrita poststreptococică . . . 330
b. Febra reumatismală . . . 331
4. Diagnostic . . . 332
a. Diagnosticul etiologic în scarlatină și infecții clinice . . . 332
b. Diagnosticul infecției streptococice inaparente . . . 332
c. Teste ajutătoare pentru diagnosticul complicațiilor alergice poststreptococice . . . 333
5. Sensibilitatea la antibiotice, terapia infecției și profilaxia complicațiilor alergice . . . 333
a. Terapia infecției . . . 333
b. Profilaxia complicațiilor alergice . . . 334
6. Profilaxia infecției . . . 334

B. *Streptococi viridans și endocardita bacteriană subacută* . . . 334
1. Diagnosticul în endocardita bacteriană subacută (e. b. s.) . . . 336
2. Tratament . . . 336
3. Profilaxia e. b. s. . . . 337

C. *Streptococcus faecalis sau enterococul* . . . 337

D. *Streptococcus pneumoniae sau pneumococul* . . . 338

Bibliografie . . . 344

XXIII. Familia Neisseriaceae . . . 347

A. *Genul Neisseria* . . . 348
1. Neisseria gonorrhoeae sau gonococul . . . 349
Morfologie și colorabilitate . . . 349
Structura antigenică și factori de patogenitate . . . 350
Cultivare . . . 352
Caractere biochimice . . . 353
Vitalitate . . . 353
Infecția gonococică . . . 354
Diagnosticul de laborator . . . 356
Sensibilitatea gonococului la antibiotice, criterii terapeutice . . . 358
Profilaxie . . . 359

2. Neisseria meningitidis sau meningococul 360
   a. Structura antigenică şi factori de patogenitate 360
   b. Infecţia meningococică 361
   c. Diagnosticul de laborator 363
   d. Sensibilitate la antibiotice, tratament 366
   e. Profilaxie 366
B. *Genul Branchamella* 367
C. *Genul Moraxella* 367
D. *Genul Acinterobacter* 368
Bibliografie 369

XXIV. **Cocobacilii gram-negativi** 373
A. *Genul Haemophilus* 374
   1. H. influenzae 375
   2. H. Ducreyi 380
   3. H. Vaginalis 381
Bibliografie 382
B. *Genul Bordetella* 383
Bibliografie 387
C. *Genul Brucella* 387
Bibliografie 393
D. *Genul Francisella* 394
Bibliografie 397
E. *Genul Pasteurella* 397
Bibliografie 398
F. *Genul Calymatobacterium* 398
G. *Genul Cardiobacterium* 399

XXV. **Familia enterobacteriaceae** 400
   1. Variabilitatea la enterobacteriaceae 401
   2. Importanţa enterobacteriaceelor în patologia actuală 402
   3. Habitatul enterobacteriaceelor 403
   4. Morfologia şi colorabilitatea enterobacteriaceelor 403
   5. Cultivarea enterobacteriaceelor 404
   6. Caractere biochimice la enterobacteriaceae 404
   7. Structura antigenică la enterobacteriaceae şi factori de patogenitate 406
   8. Diagnosticul infecţiilor cu enterobacteriaceae 413
      a. Diagnosticul microbiologic 413
      b. Serodiagnosticul 415
   9. Sensibilitatea la antibiotice şi chimioterapeutice 415
   10. Profilaxia infecţiilor cu enterobacteriaceae 416
A. *Genul Escherichia* 418
   1. Structura antigenică şi factori de patogenitate 418
      Antigene de specificitate 418
      Factori de patogenitate şi serotipuri enteropatogene 419
   2. Infecţia tractusului urinar (ITU) 421
   3. Enterita gravă a sugarului 422
   4. Alte infecţii extraintestinale 423
Bibliografie 424

B. *Genul Salmonella* 425
1. Salmonella typhi şi febra tifoidă 426
2. Agenţii toxiinfecţiilor alimentare, salmoneloze 428
Bibliografie 429
C. *Genul Shigella* 431
Bibliografie 435
D. *Genul Klebsiella* 436
Bibliografie 439
E. *Genul Proteus* 439
Bibliografie 441
F. *Genul Yersinia* 442
1. Yersinia pestis 442
2. Yersinia pseudotuberculosis 445
3. Yersinia enterocolitica 446
Bibliografie 446
G. *Enterobacteriaceae accidental patogene* 448
XXVI. **Familia Vibrionaceae** 449
Vibrio cholerae 450
Habitat şi vitalitate 450
Morfologie şi colorabilitate 450
Cultivare 451
Caractere biochimice 451
Structură antigenică 451
Patogeneza 453
Imunitatea 454
Diagnostic bacteriologic 454
Serodiagnosticul 455
Profilaxie 455
Sensibilitatea naturală la A. şi ch. şi terapie 456
Bibliografie 456
XXVII. **Familia spirillaceae** 458
Genul spirillum 458
Genul campylobacter 458
Bibliografie 459
XXVIII. **Genul pseudomonas** 460
1. *Pseudomonas aeruginosa* 460
2. *Pseudomonas pseudomallei* 466
3. *Pseudomonas mallei* 467
Bibliografie 467
XXIX. **Bacterii anaerobe nesporulate Flora Veillon** 469
Habitat 469
Contaminare 469
Colonizare 470
Infecţii 470
Factori de patogenitate 471
A. *Familia bacteroidaceae* 471
B. *Familia Peptococcaceae* 475
C. *Familia Propionibacteriaceae* 476

D. *Familia Veillonellaceae* . . . 476
Bibliografie . . . 477

XXX. Familia Bacillaceae, Bacili sporulați gram-pozitiv . . . 479
Genul Bacillus . . . 479
1. Specii bacillus nepatogene . . . 479
2. Specii bacillus accidental patogene . . . 480
3. Bacillus anthracis . . . 480
Morfologie și colorabilitate . . . 481
Metabolism, cultivare . . . 481
Vitalitate . . . 482
Structură antigenică și patogenitate . . . 482
Contaminare. Infecție. Patogenie . . . 482
Imunitate . . . 483
Diagnostic bacterologic . . . 483
Terapie . . . 484
Profilaxie . . . 484
Bibliografie . . . 485
Genul Clostridium . . . 485
Habitat . . . 486
Rezistența sporilor . . . 487
Cultivare . . . 487
Identificarea speciilor . . . 490
Sensibilitate la antibiotice . . . 490
1. Clostridium botulinum . . . 490
Habitat, contaminare . . . 490
Structură antigenică, exotoxina botulinică . . . 491
Boala la om . . . 491
Diagnosticul . . . 492
Antitoxine botulinice, terapie . . . 493
Anatoxina botulinică, profilaxie . . . 493
2. Clostridium tetani . . . 493
Morfologie și colorabilitate . . . 494
Caractere biochimice . . . 494
Habitat, contaminare, . . . 495
Intoxicație . . . 495
Structura antigenică și toxina tetanică . . . 496
Diagnostic . . . 496
Antitoxina tetanică, terapie . . . 496
Antitoxina, vaccinarea . . . 497
3. Clostridiile gangrenei gazoase, clostridium perfringens . . . 498
Contaminarea . . . 498
Poarta de intrare . . . 498
Patogeneză. Infecții . . . 498
Structura antigenică și factori de patogenitate la clostridiile garngrenei gazoase . . . 499
Imunitatea . . . 500
Diagnostic bacteriologic și antibiograma . . . 500
Profilaxia gangrenei gazoase . . . 501
Terapie . . . 501
Bibliografie . . . 502

- XXXI. **Bacili gram-pozitiv nesporulaţi** 505
  - *A. Genul Listeria* 505
    - Listeria monocytogenes 505
    - Morfologie 505
    - Cultivare 506
    - Caractere biochimice 506
    - Antigene de specificitate 506
    - Factori de patogenitate 506
    - Habitat, contaminare, infecţie 507
    - Diagnosticul etiologic 508
    - Sensibilitate la antibiotice şi terapie 509
    - Profilaxie 509
  - *B. Genul Erysipelothrix* 509
  - *Bibliografie* 510
  - *C. Genul Corynebacterium* 511
    - Corynebacterium diphtheriae 513
    - Habitat 513
    - Morfologie şi colorabilitate 513
    - Cultivare 513
    - Rezistenţa 514
    - Sensibilitate la antibiotice 514
    - Structură antigenică şi patogenitate 514
    - Difteria 515
    - Diagnosticul difteriei 516
    - Tratament 516
    - Profilaxie 517
  - *Bibliografie* 518
- XXXII. **Ordinul Actinomycelates** 520
  - *A. Genul Mycobacterium* 521
    - 1. Mycobacterium tuberculosis, m. bovis, m. ,,atipice'' 522
      - Habitat, contaminare 524
      - Morfologie şi colorabilitate 524
      - Cultivare 525
      - Caractere biochimice 526
      - Rezistenţa la agenţi fizici şi chimici 526
      - Patogenitate experimentală 527
      - Structura antigenică şi factori de patogenitate 527
      - Tuberculoza 528
      - Mycobacteriozele 531
      - Diagnosticul tuberculozei 531
      - Sensibilitatea la antibiotice şi chimioterapice 533
      - Profilaxie 534
    - 2. Mycobacterium leprae 536
  - *B. Genul Actinomyces* 540
    - Actinomyces israelii 540
  - *C. Genul nocardia* 543
  - *Bibliografie* 544

XXXIII. **Familia spirochetaceae** . . . 546
  A. *Genul treponema* . . . 546
    1. Habitat, contaminare, infecţii . . . 547
      Treponemele înalt patogene pentru om . . . 547
      Treponeme cemensale pe mucoase la om . . . 548
      Treponema patogenă pentru iepure . . . 549
    2. Morfologie şi examinare microscopică . . . 550
    3. Izolarea şi întreţinerea T. pallidum în laborator . . . 550
    4. Rezistenţa la factori fizici şi chimici . . . 551
    5. Antigene pentru serodiagnosticul sifilisului (SDS) . . . 551
      a. Antigenul lipoidic „cardiolipin", ubicvitar . . . 551
      b. Antigenul proteic, Reiter, cu specificitate de gen treponema 552
      c. Antigenul T. pallidum, Nichols, cu specificitate de specii patogene 552
    6. Sifilisul, patogenie, imunitate, diagnostic . . . 553
    7. Diagnostic de laborator . . . 555
      a. Diagnostic la bolnav . . . 555
      b. Investigaţii seroepidemiologice . . . 556
    8. Sensibilitate la antibiotice . . . 556
    9. Profilaxie . . . 556
  Bibliografie . . . 557
  B. *Genul leptospira* . . . 559
    Leptospira interrogans . . . 560
  Bibliografie . . . 566
  C. *Genul Borrelia* . . . 567
XXXIV. **Clasa rickettsias** . . . 571
  A. *Familia rickettsiaceae* . . . 572
      Aspecte epidemiologice . . . 572
      Morfologie, colorabilitate . . . 573
      Înmulţire . . . 573
      Sensibilitate la agenţi de mediu extern . . . 573
      Sensibilitate la antibiotice . . . 573
    1. Genul Rickettsia . . . 574
      Structură ntigenică . . . 574
      Imunitatea . . . 576
      Rickettsia prowazekii şi tifosul exantematic . . . 576
      Diagnosticul microbiologic . . . 578
      Serodiagnosticul . . . 578
      Profilaxie . . . 578
    2. Genul Rochalimaea . . . 579
    3. Genul Coxiella . . . 580
  Bibliografie . . . 581
  B. *Familia Chlamydiaceae. Genul chlamydia* . . . 582
    1. Chlamydia trachomatis . . . 584
    2. Chlamydia psittaci . . . 588
  Bibliografie . . . 589
XXXV. **Clasa mollicutes** . . . 591
  Ordinul mycoplasmatales . . . 591
    Genul mycoplasma . . . 591
      Istoric . . . 591
      Habitat, contaminare . . . 594

Morfologie şi colorabilitate 594
Necesităţi nutritive, cultivare 594
Proprietăţi biochimice 595
Sensibilitate la agenţi fizici şi chimici 596
Sensibilitate la antibiotice şi chimioterapice 597
Structură antigenică şi teste de identificare serologică 597
Patogenitate experimentală pentru M. pneumonie 598
Infecţii cu Mycoplasma la om 598
Diagnosticul pneumoniei atipice primare prin M. pneumoniae 600
Profilaxie 601
Bibliografie 601

Partea a V-a VIROLOGIE MEDICALĂ (M. Duca) 603
XXXVI. Definiţia şi delimitarea obiectului de studiu 604
1. Conceptul de virus 604
2. Defința virusului 605
3. Structura virusului 607
4. Clasificări 608
5. Evoluţia virusurilor 617
6. Planuri ecologice ale interrelaţiei virus-gazdă 618
Bibliografie 619
XXXVII. Metode de studiu şi identificare a virusurilor 620
A. *Metode de izolare şi purificare a virusurilor şi macromoleculelor virale* 621
1. Solubilizarea 621
2. Purificarea virusurilor şi moleculelor biologice 622
B. *Metode pentru identificarea şi caracterizarea virusurilor şi macromoleculelor virale* 626
1. Metode hidrodinamice 627
2. Metode optice 630
3. Metode bazate pe reacţii antigen-anticorp 632
Bibliografie 639
XXXVIII. Structura şi compoziţia chimică a virusurilor 641
1. Compoziţia chimică 641
2. Hemaglutinarea virală 644
3. Susceptibilitate la agenţi fizici şi chimici 645
4. Design şi construcţia virionilor 647
Bibliografie 654
XXXIX. Metode de multiplicarea virusurilor şi criterii de evaluare 656
1. Gazde de laborator 656
2. Modificări produse de virusuri în culturi de celule 659
Bibiliografie 662
XL. Multiplicarea virusurilor 664
A. *Ciclul litic, citocid* 667
1. Stadiile replicării virale 669
2. Particule defective de virus 684
B. *Infecţie virală persistentă, cronică-ciclică* 685
a. Mecanisme implicate 685
b. Modele de expresie a infecţiei persistente 686
C. *Infecţia integrată, latentă* 688

a. Lizogenia 688
b. Infecția latentă cu virusuri animale 690
Bibliografie 691

XLI. **Genetică și interacțiuni virale** 693
1. Genetică moleculară 693
2. Genetica populațiilor virale 698
3. Sinteza *in vitro* de DNA viral și de gene (operoni) 699
Transfer de gene virale 699
Bibliografie 702

XLII. **Interferență. Interferoni** 704
Interferoni 705
Bibliografie 710

XLIII. **Chimioterapia și chimioprofilaxia infecției virale** 711
1. Guanidina (G) și 2—(Hidroxibenzil)-benzimidazol (HBB) 712
2. Methisazona (Marboran) 712
3. Analogi purinici și pirimidinici 712
4. Amantadina hidroclorică (Symmetrel) 713
5. Ribavirin (Virazole) 714
6. Izoquinoleina 714
7. Inactivarea fotodinamică. 714
8. Inhibitori utili pentru studiul replicării virusurilor 715
9. Chimioterapie antivirală și imunomodulare 715
Bibliografie 716

XLIV. **Oncogeneza virală. Virusuri oncogene** 717
A. *Caracteristici ale oncogenezei virale* 717
B. *Virusuri oncogene cu RNA* (Oncornavirusuri) 719
1. Clasificare 719
2. Proprietățile oncornavirusurilor 724
3. Chimioterapie antivirală experimentală 731
4. Studii privind neoplazii umane asociate cu oncornavirusuri 732
C. *Virusuri oncogene cu DNA* (Oncodnavirusuri) 734
1. Familia Papovavirus (Papovaviridae) 734
2. Familia Adenovirus (Adenoviridae) 738
3. Transformarea celulară cu Papova- și Adenovirusuri 738
4. Familia Herpesvirus (Herpetoviridae) 740
5. Stări neoplazice umane asociate cu virusuri DNA Oncogene 741
Bibliografie 742

XLV. **Patogeneza infecției virale** 745
A. *Contactul infectant* 746
B. *Factori celulari și virali în patogeneză* 747
1. Virulența 747
2. Alterări celulare în infecția virală 747
3. Susceptibilitate celulară 750
C. *Modele patogenetice de boli virale* 752
1. Infecții virale acute 754
2. Infecții virale persistente sau latente 765
3. Infecții virale lente („*slow infections*") 770
Bibliografie 772

- XLVI. **Apărarea antivirală a organismului** . . . 774
  - A. *Sistemul defensiv antiviral* . . . 774
  - B. *Răspunsul imun celular şi umeral* . . . 778
    - 1. Antigene virale . . . 778
      - Modulare antigenică . . . 781
    - 2. Răspunsul imun umoral în infecţii virale . . . 785
    - 3. Răspunsul imun mediat celular în infecţii virale . . . 792
  - *Bibliografie* . . . 801
- XLVII. **Imunopatologia infecţiilor virale** . . . 804
  - A. *Reacţii imunopatologice în infecţii virale* . . . 805
    - 1. Reacţii citotoxic-citolitice mediate de anticorp circulant . . . 805
    - 2. Reacţii imunopatologice prin complexe imune în infecţii virale . . . 806
    - 3. Reacţii de hipersensibilizare de tip întîrziat în infecţii virale . . . 809
  - B. *Efectul infecţiei virale asupra funcţiei sistemului imunocompetent* . . . 815
  - C. *Autoimunitate în infecţiile virale* . . . 816
  - *Bibliografie* . . . 819
- XLVIII. **Epidemiologia infecţiilor virale** . . . 821
    - 1. Noţiuni generale . . . 821
    - 2. Triada: rezervor-agent vector-gazdă . . . 823
    - 3. Metode de combatere . . . 831
  - *Bibliografie* . . . 832
- XLIX. **Vaccinuri virale. Seroprofilaxie** . . . 833
  - A. *Criteriile vaccinoprofilaxiei virozelor* . . . 833
  - B. *Tipuri de vaccinuri virale* . . . 836
    - 1. Vaccinuri virale inactivate . . . 836
    - 2. Vaccinuri cu virus viu atenuat . . . 837
    - 3. Vaccinuri cu subunităţi virale . . . 840
    - 4. Adjuvanţi imunologici . . . 841
  - C. *Vaccinuri virale utilizate* . . . 842
  - D. *Seroprofilaxie* . . . 844
  - *Bibliografie* . . . 844
- L. **Diagnosticul de laborator al virozelor** . . . 846
  - A. *Bazele metodologice* . . . 847
  - B. *Laboratorul clinic de virusologie* . . . 850
    - 1. Metoda anticorpilor marcaţi în diagnosticul rapid al virozelor . . . 852
    - 2. Imunoelectronomicroscopia în diagnosticul rapid al virozelor . . . 857
    - 3. Serodiagnosticul prin reacţia de fixare a complementului . . . 858
    - 4. Izolarea şi identificarea virusului . . . 861
    - 5. Probleme speciale de diagnostic în laboratorul clinic de virusologie . . . 861
  - C. *Laboratorul de virusologie sanitaro-antiepidemic* . . . 868
  - *Bibliografie* . . . 869

Partea a VI-a: PROTOZOOLOGIE MEDICALĂ (G. Furtunescu) . . . 871

- LI. **Generalităţi** . . . 872
- LII. **Clasa flagellata** . . . 874
  - *Ordinul protomonadide* . . . 874
  - *Familia Trypanosomidae* . . . 874

- Genul Trypanosoma 875
  - Trypanosoma gambiense 876
  - Trypanosoma rhodesiense 878
  - Trypanosoma cruzi 878
- Genul Leishmania 879
  - Leishmania donovani 880
  - Leishmania tropica 882
  - Leishmania brasiliensis 884
- *Familia Chilomastigidae* 884
- Genul Chilomastix 885
  - Chilomastix mesnili 885
- *Familia Trichomonadidae* 885
- Genul Trichomonas 886
  - Trichomonas buccalis 886
  - Trichomonas intestinalis 886
  - Trichomonas vaginalis 887
- *Ordinul Diplomonadide* 889
- *Familia Octomitidae* 889
- Genul Giardia 889
  - Giardia intestinalis 889

LIII. **Clasa Rhizopoda** 891
- *Ordinul Amoebieni* 891
- *Familia Amoebidae* 891
- Genul Entamoeba 891
  - Entamoeba histolytica 891
  - Entamoeba gingivalis 894
  - Entamoeba coli 894
- Genul Endolimax 895
  - Endolimax nana 895
- Genul Pseudolimax 896
  - Pseudolimax bütschlii 896
- Genul Dientamoeba 896
  - Dientamoeba fragilis 896

LIV. **Clasa Sporozoare** 898
- *Ordinul Haemosporidia* 898
- *Familia Plasmodidae* 898
- Genul Plasmodium 899
  - Evoluţia parazitului în general şi caracterele morfologice 899
    - 1) Ciclul schizogonic 899
    - 2) Cic lulsporogonic 900
  - Caracterele morfologice ale speciilor de plasmodium 901
    - Plasmodium vivax 901
    - Plasmodium malariae 902
    - Plasmodium falciparum 902
  - Alte criterii de diferenţiere a speciilor de plasmodium 903
    - Malaria (Paludismul) 903
  - Microorganisme incluse provizoriu în clasa Sporozoare 907

Familia Toxoplasmidae . . . 907
Genul Toxoplasma . . . 907
Toxoplasma gondii . . . 907
LV. **Clasa Ciliata** . . . 911
Ordinul Heterotriche . . . 911
Genul Balantidium . . . 911
Balantidium coli . . . 911
Paraziţi cu poziţie sistematică nesigură . . . 913
Genul Pneumocystis . . . 913
Pneumocystis carinii . . . 913
Bibliografie . . . 916

Partea a VII-a: MICOLOGIE MEDICALĂ (G. Furtunescu) . . . 917

LVI. **Generalităţi** . . . 918
Ramura Eumycetes . . . 922
LVII. **Clasa Phycomycetes** . . . 924
Genul Coccidioides . . . 924
Coccidioides immitis . . . 924
Genul Rhizopus . . . 926
Rhizopus nigricans . . . 926
LVIII. **Clasa Aoscmycetes** . . . 929
Genul Aspergillus . . . 929
Aspergillus fumigatus . . . 930
Genul Penicillium . . . 932

LIX. **Clasa Basidiomycetes** . . . 934

LX. **Clasa Fungi imperfecti** . . . 935
Ordinul Moniliales (Hyphomycetales) . . . 935
Familia Cryptococcaceae . . . 935
Genul Cryptococcus . . . 936
Cryptococcus neoformans . . . 936
Genul Candida . . . 938
Candida albicans . . . 938
Genul Malassezia . . . 942
Malassezia furfur . . . 942
Familia Moniliaceae . . . 944
Genul Trichophyton . . . 944
Trichophyton violaceaum . . . 944
Trichophyton cerebriforme . . . 945
Trichophyton crateriforme . . . 945
Trichophyton acuminatum . . . 946
Trichophyton gypseum . . . 946
Trichophyton niveum . . . 947
Trichophyton album . . . 947
Trichophyton schönleini . . . 948
Trichophyton quinckeanum . . . 949
Trichophyton gallinae . . . 949
Genul Microsporum . . . 949
Microsporum audouini . . . 949

Microsporum ferrugineum 950
Microsporum lanosum 950
Genul Epidermophyton 951
Epidermophyton floccosum 951
Epidermophyton interdigitalis 952
Epidermophyton rubrum 952
Genul Actinomyces 957
Actinomyces minutissimus 958
Genul Sporotrichum 958
Sporotrichum schenki 959
Genul Histoplasma 960
Histoplasma capsulatum 960
Familia Dematiaceae 961
Genul Alternaria 961
Alternaria tenuis 961
Familia Tuberculariaceae 962
Genul Fusarium 962
Bibliografie 963
Manuale şi tratate 964
Cărţii şi monografii consultate pentru capitole de imunologie şi imunopatologie 966

DEZVOLTAREA ISTORICĂ A MICROBIOLOGIEI ŞI IMUNOLOGIEI

Este justificată afirmaţia că istoria microbiologiei reprezintă însăşi istoria medicinei moderne:

Microbiologia se ocupă cu studiul microbilor* sau microorganismelor, a celor mai mici vieţuitoare, organisme ce pot fi văzute numai cu ajutorul microscoapelor. Istoria microbiologiei şi progresul ei sînt strîns legate de descoperirea microscopului, de curiozitatea ştiinţifică a lui *Leeuwenhoek* şi de geniul lui *Pasteur*. Analizînd tot ce gîndirea omenească a intuit anterior lui în acest domeniu, **Pasteur a pus bazele microbiologiei ca ştiinţă în general,** şi **ale microbiologiei medicale în special**, stabilind natura biologică a infecţiei, proces determinat de vieţuitoare microscopice.

Pînă acum 100 de ani epidemiile se dezvoltau nestînjenite; ciuma, holera şi variola decimau uneori pînă la 80% din populaţii, iar difteria, tifosul exantematic, febra tifoidă făceau ca mortalitatea prin boli infecţioase să depăşească cu mult pierderile în vieţi omeneşti determinate de toate celelalte calamităţi naturale şi de războaie.

Măsurile antiepidemice nu au putut fi înţelese pînă ce nu a fost cunoscută cauza bolilor infecţioase.

Pînă la *Pasteur* au dominat două teorii cu privire la originea epidemiilor:

teoria miasmelor, emisă de *Hipocrat* (460—375 î. e. n.), părintele medicinei, după care bolile epidemice erau date de „miasme morbide", cauză materială, dar confuză ca noţiune;

teoria contagiunii, menţionată în scrierile istoricului grec *Tucidide* (460—395 î. e. n.), după care epidemiile erau date de particule foarte mici de materie vie, „*contagium animatum*", teorie reînviată în evul mediu de *Fracastorius* (1478—1553), medic şi poet italian, care a susţinut că bolile contagioase ar fi date de „germeni" vii şi invizibili.

*

Toate acestea nu erau însă decît ipoteze; adunarea datelor exacte a început odată cu descoperirea microbilor datorată lui *Leeuwenhoek* (1632—1723). Acest cercetător înnăscut, olandez, postăvar şi portar de meserie, avea pasiunea şlefuirii lentilelor. Cu acestea examina orice îi cădea la îndemînă făcînd descrieri şi desene foarte exacte asupra celor văzute; a descris hematii, structura osului, a lemnului, anatomia unor insecte; a remarcat astfel existenţa unor organisme foarte mici, pe care le-a numit „animalcule"; le-a măsurat şi a constatat că sînt „mai mici decît cea mai mică" vietate cunoscută pînă atunci, prezente în infuzia de piper, în materialul raclat de pe proprii dinţi, în apa de ploaie stătută, în urină, în materii fecale etc.

---

* Termen creat de *Sédillot* în 1880 şi acceptat de *Littré*.

Antoine van Leeuwenhoek
(1632—1723)

Lazzaro Spallanzani
(1729—1799)

A constatat că se înmulțesc în apă, s-a minunat și a descris cu lux de amănunte marea lor mobilitate . . . ; (el a descris atît bacterii cît și protozoare).

Aceste descoperiri, comunicate societății regale de știinţe din Londra, nu au fost urmate de un progres rapid al cunoștințelor, așa cum ar fi fost de așteptat. În schimb, ele au devenit obiectul unor polemici înverșunate între preoți și oameni de știință cu privire la originea lor, primii susținînd teoria ,,generației spontane", a apariției acestor microorganisme din materie moartă, sau ,,de la sine". La acea epocă, secolul al XVII-lea, se considera că pînă și insectele ar apărea din materie moartă (carne stricată) : *Ross*, naturalist englez, era convins că albinele și viespile se nasc din gunoi, iar șoarecii din nămolul Nilului . . . , motiv pentru care *Redi*, în 1668, trebuia să demonstreze, prin experiențe, că larvele se nasc din părinți, acoperind cu tifon vase cu carne pentru a evita depunerea ouălor de muscă și, astfel, dezvoltarea larvelor. În secolul al XVIII-lea, adepții ,,generației spontane" susțineau încă această teorie în privința originii microbilor : . . . . ,,dacă muștele se nasc din ouă . . . apoi ființele invizibile se nasc *de la sine*" . . .

Această teorie a fost combătută în mod științific de *Spallanzani* (1729—1799), călugăr, matematician și naturalist italian, profesor la universitatea din Pavia. El a dovedit că microbii sînt distruși prin fierbere prelungită, că nu mai reapar în lichidul fiert și menținut în vas ermetic închis ; a descoperit existența bacteriilor sporogene și a celor anaerobe, organisme care trăiesc la adăpost de oxigenul liber.

Și totuși, încă în 1853, profesorul anatomist *Henle* scria : ,,De cum apare o epidemie, medicii se împart în două tabere, tabăra partizanilor miasmelor și tabăra partizanilor contagiunii ; apoi, contagioniști și miasmiști sfîrșesc prin a cădea la învoială, admițînd că și unii și alții au dreptate și că, după felul epidemiei, propagarea se face fie prin miasme, fie prin contagiune" . . .

*

De aceea, pe drept cuvînt, chimistul și medicul* *Louis Pasteur* (1822—1895) este considerat părintele *microbiologiei*, termen creat de el însuși. A fost necesară autoritatea științifică a lui *Pasteur* pentru a demonstra în mod definitiv că bacteriile și ciupercile nu se nasc ,,spontan" ci din părinți și, ca orice vietate, se înmulțesc și pot fi omorîte. *El a pus astfel bazele sterilizării* : flacoanele sale cu lichide sterile sînt păstrate și azi și sînt la fel de limpezi ca în ziua în care au fost sterilizate. A fost astfel *combătută, definitiv, teoria vulgară a ,,generației spontane"*.

Cu ocazia acestor cercetări, s-au născut atît metodele de lucru ale microbiologiei experimentale, procedee de distrugere a microbilor prezenți în conținutul unui flacon, *procedee de sterilizare*, ca și metode de a preveni introducerea microbilor din afară în flaconul sterilizat prin folosirea dopului de vată, a flambării, evitarea atingerii conţinutului steril etc., ceea ce a condus la *conceptul şi metodica lucrului aseptic.*

---

* ,,Diplôme de docteur en médecine de l'Université de Bonn".

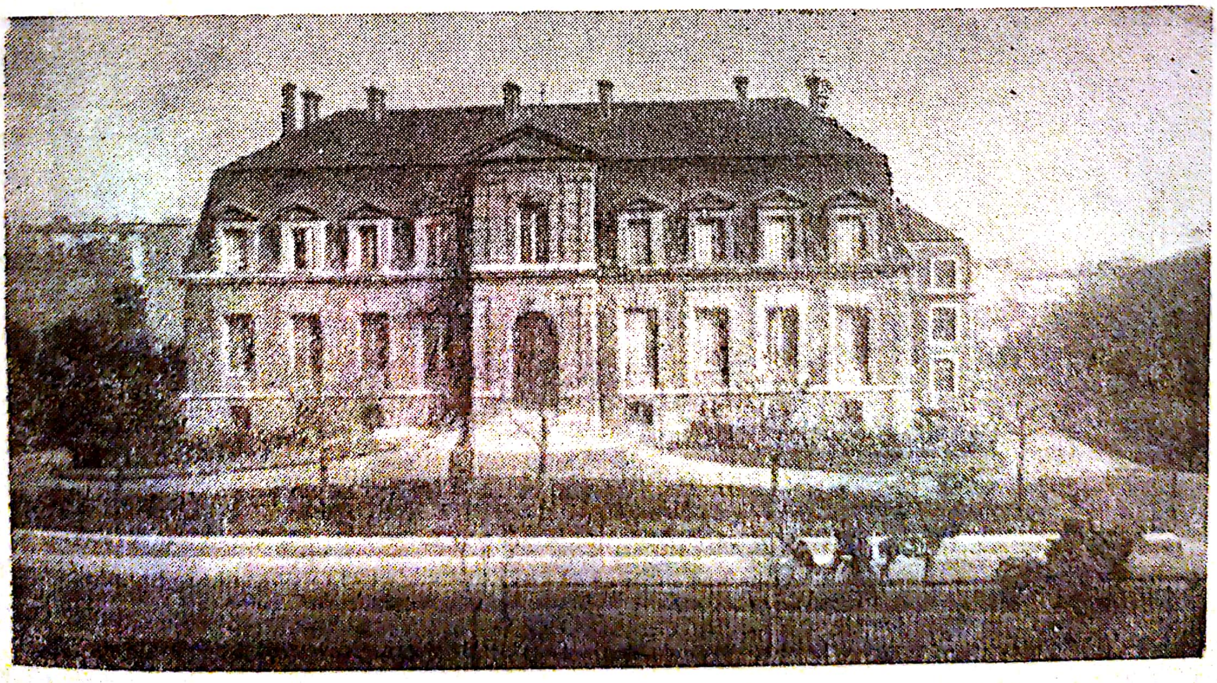
Louis *Pasteur* (1822—1895)

*

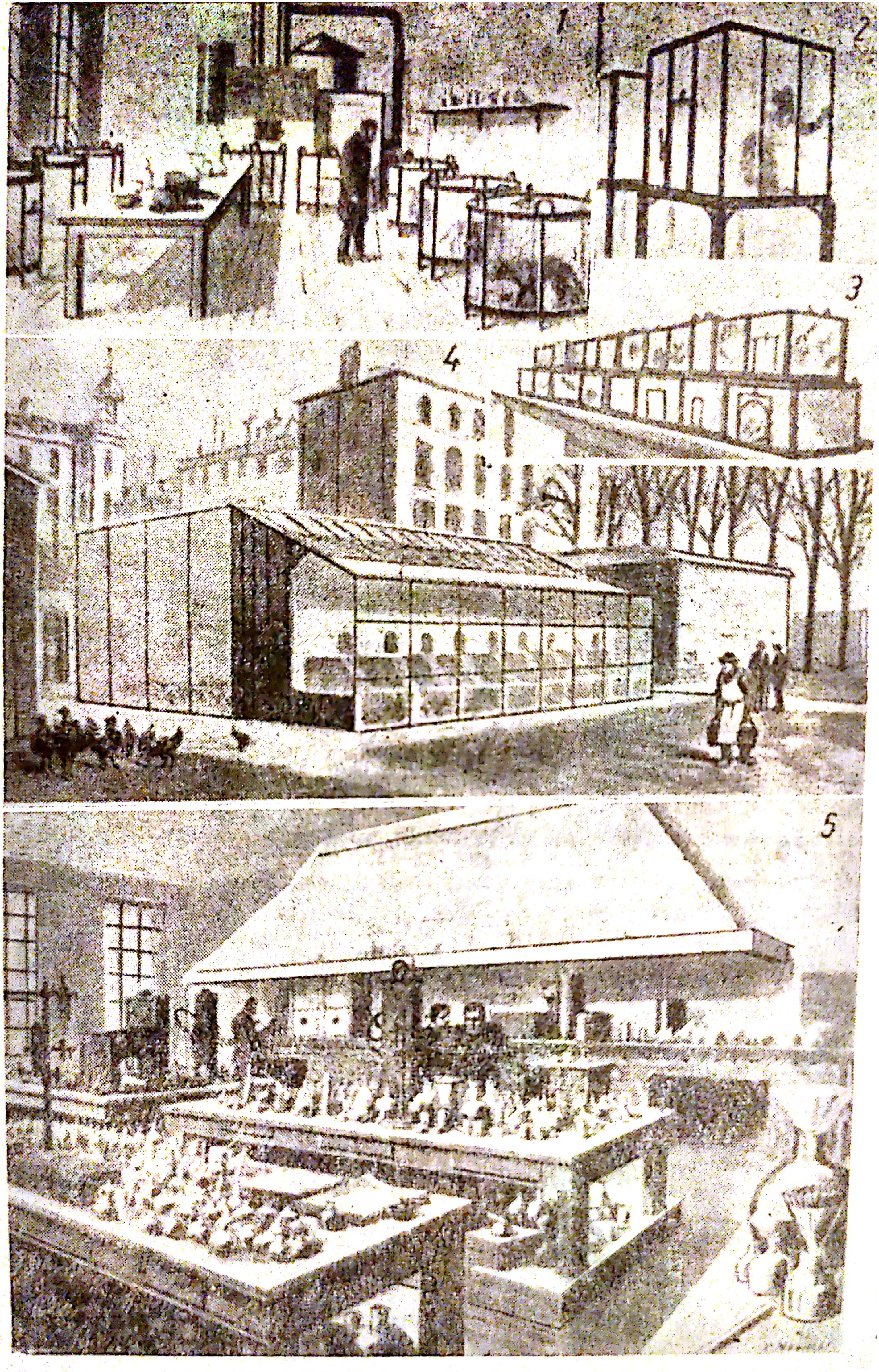
Pasteur a demonstrat legătura cauzală dintre microbi şi boală: bolile epidemice sînt boli infecţioase, determinate de modificările consecutive pătrunderii şi dezvoltării microbilor în organism. Cercetările sale în acest domeniu au început prin descoperirea rolului microbilor în procesele fermentative: fermentaţiile sînt transformări chimice care au loc ca o consecinţă a metabolismului anumitor bacterii şi ciuperci. *Pasteur* a ajuns la acest concept ca urmare a experienţelor care demonstrau că unele microorganisme determină prin înmulţire transformări chimice specifice: dezvoltarea ciupercii *Penicilium glaucum* în prezenţa unui amestec de cristale de tartrat dextro- şi levogir consumă numai izomerul dextrogir (produce modificări metabolice). În 1857 apare primul său memoriu asupra fermentului lactic pe care îl identifică cu un bacil, prin care a confirmat şi *a fundamentat definitiv teoria biologică a fermentaţiilor*. Tot el *a demonstrat specificitatea proceselor fermentative*: fiecare proces fermentativ este determinat de un anumit microb. În continuare, *a constatat natura biologică a bolilor băuturilor fermentate* (bere, vin), ca modificări determinate de dezvoltarea unor specii microbiene ,,sălbatice'', nedorite (ceea ce duce la alterarea gustului, aromei, calităţii băuturii), şi a imaginat metodele de prevenire a acestor boli.

Aceste studii şi introducerea încălzirii diferenţiale — *pasteurizarea* — au revoluţionat metodologia de preparare a băuturilor fermentate şi, apoi, şi a altor alimente, au creat ***microbiologia industrială*** şi au ridicat Franţa pe primul loc din acest punct de vedere.

Solicitat să studieze şi bolile viermilor de mătase, *Pasteur*, folosind doar microscopul, a constatat că acestea sînt provocate tot de microbi: ***pebrina*** este produsă de microbi care para-



Institutul Pasteur, Paris, în 1904 (După A. Delaunay, 1962)



Laboratorul lui Pasteur imaginat de profani zitează oul viermelui de mătase şi „compromite astfel noua generaţie de gogoşi"; *fleşeria* este o infecţie intestinală care omoară viermii. Elaborează metode de prevenire, metode cu valabilitate principială în prevenirea infecţiei, metode care au salvat de la ruină industria mătăsii naturale din sudul Franţei, dar, pentru care *Pasteur* nu a primit *încă*, de la cei care i-au promis-o, bine meritata statuie de aur*. *Metode simple, dar care, aplicate de medici şi nemedici, sînt în măsură să prevină marea majoritate a infecţiilor şi care nu necesită decît un învăţămînt ce poate fi sintetizat în două cuvinte, evitarea contaminării sau, într-un cuvînt, curăţenie (igienă).*

Pasteur ajunge treptat la convingerea că şi alte boli, ca bolile epizootice, animale, ca bolile epidemice, umane, sînt cauzate tot de microbi care se înmulţesc în organism şi care, trecînd de la individ la individ prin excrete, sau secreţii purulente, prin intermediul obiectelor murdărite de acestea, transmit boala, contaminează, generînd epidemii.

Demonstrarea acestui adevăr prin cercetări privind holera găinilor, a infecţiei cărbunoase, sepsiei puerperale etc., şi descoperirea microbilor producători, a avut ca urmare în a doua jumătate a secolului XIX o dezvoltare vertiginoasă a **microbiologiei medicale**. Au fost cercetaţi şi cunoscuţi microbii cauzatori ai celor mai variate boli:

Robert Koch (1843—1910), medic de ţară, devine părintele şcolii germane de microbiologie prin studii asupra bacteridiei cărbunoase, descoperirea metodei de cultivare pe medii solide care serveşte ca fundament al unei bacteriologii ştiinţifice, descoperirea vibrionului holeric, a bacilului tuberculozei şi a alergiei în tuberculoză etc., ceea ce îi aduce *premiul Nobel pentru fiziologie şi medicină din 1905.*

Alphonse Laveran (1845—1922), microbiolog, studiază paludismul şi descoperă în 1878 hematozoarul palustru *(premiul Nobel, 1907).*

Jules Bordet (1870—1961) studiază numeroase infecţii, descoperă agentul tusei convulsive *(premiul Nobel, 1919).*

•

Dimitrie I. Ivanovski (1869—1920) a pus în evidenţă o nouă formă de existenţă a materiei vii, virusurile filtrabile (1892), prin descoperirea virusului mozaicului tutunului şi astfel *începe dezvoltarea unei noi ştiinţe microbiologice*, **virusologia**. Deşi încă *Pasteur* emisese ipoteza că agentul turbării trebuie să fie de dimensiuni foarte mici, invizibil la microscopul fotonic, *Ivanovski* este acela care demonstrează, pentru prima oară, că agentul bolii prezent în sucul de plantă (tutun) bolnavă este de dimensiuni atît de mici, încît trece prin porii filtrelor capabile să reţină toate bacteriile cunoscute: filtratul obţinut, lipsit de bacterii sau ciuperci, inoculat la o plantă normală, reproduce aceeaşi boală şi factorul infecţios se înmulţeşte considerabil în ţesutul vegetal al gazdei noi. Experienţele lui sînt confirmate, în 1898, de *Beijerink* şi reproduse în acelaşi an de *Loeffler* şi *Frosch* în febra aftoasă, pe bovidee. Folosindu-se animale de laborator drept gazde pentru izolarea virusurilor din ţesuturile sau secreţiile organismelor bolnave şi filtrabilitatea drept

Robert Koch (1845 — 1910)

---

* În 1905, facultatea de biologie din Iaşi organiza deja cursuri sistematice de instruire a crescătorilor de viermi de mătase în folosirea microscopului pentru alegerea seminţei sănătoase.

metoda de bază pentru debarasarea de bacterii, în primele trei decenii ale secolului al XX-lea au fost izolate numeroase virusuri :

În 1902, *Reed* demonstrează prin experienţe pe ,,voluntari" că febra galbenă este cauzată de un virus filtrabil, prezent în sîngele bolnavilor în primele zile de boală şi transmis de ţînţarul *Aedes aegypti*.

În 1909, *Landsteiner* şi *Popper* izolează virusul poliomielitic prin inoculare la maimuţă.

În 1912, *Gruter* reproduce infecţia experimentală cu virus herpetic la iepure etc.

Descoperirea bacteriofagului de către *Twort* (1915) şi, independent, de *d'Hérelle* (1917) şi studiul proprietăţilor acestuia reprezintă un progres însemnat în definirea proprietăţilor virusurilor; şi astăzi, bacteriofagii constituie un model de studiu a naturii virusurilor şi a unor procese vitale fundamentale de genetică. Contribuţii importante la studiul bacteriofagului şi fenomenului de bacteriofagie au adus, încă din 1920, cercetările lui *J. Bordet* şi ale savantului român *Mihai Ciucă*.

Un alt progres în studiile asupra virusurilor şi rickettsiilor, atît în ceea ce priveşte izolarea de noi virusuri cît şi pentru determinări cantitative (titrări), îl constituie folosirea drept gazde de laborator a *şoarecelui alb* (1930) şi a *embrionului de găină* (1931).

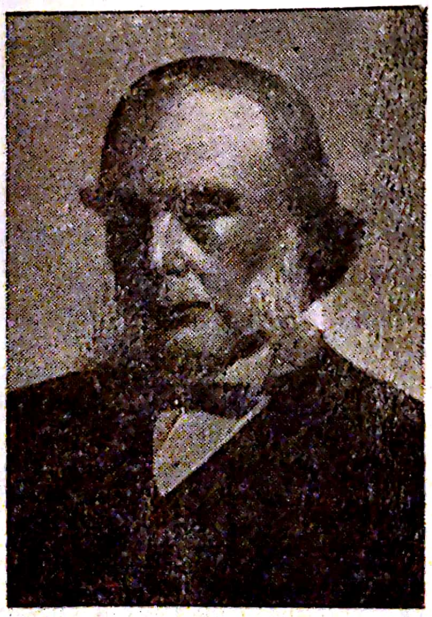
Perioada modernă de dezvoltare a virusologiei începe din anul 1950, ca urmare a perfecţionării tehnicilor de realizare a culturilor de celule şi utilizării lor drept gazdă pentru studiul virusurilor *(Enders, Weller* şi *Robbins, premiul Nobel, 1954)*, metode care au permis ulterior prepararea de vaccinuri care au rezolvat mari probleme de sănătate publică ca, de exemplu, vaccinul antipoliomielitic.

Epocale descoperiri cu mari perspective în lupta împotriva cancerului sînt marcate de descoperirea virusurilor cancerigene (în 1911) de către *Francis Rous (premiul Nobel din 1966)*.

•

Odată cu descoperirea de noi şi diferite microorganisme patogene, **metodologia de prevenire a contaminării, devenită principiu în practica de spital şi în lupta antiepidemică**, permite de asemenea mari realizări :

Joseph Lister (1827—1912), chirurg englez, contribuie esenţial la elaborarea tehnicilor bacteriologice, metode de cultivare, fiind ,,primul bacteriolog care a obţinut cu certitudine culturi pure". Este cel mai convins şi activ susţinător al teoriei biologice a lui *Pasteur* privind infecţiile şi a aplicat pentru prima dată (1867) antisepsia (distrugerea microbilor cu substanţe chimice) în chirurgie, pentru prevenirea sepsiei de spital; el scria lui *Pasteur* : ,,dacă veţi veni vreodată la Edinburg veţi găsi cred cea mai bogată răsplată văzînd în spitalul nostru ce binefaceri pentru umanitate produce opera d-voastră". Este vorba despre considerabila scădere a mortalităţii prin infecţia de spital, ca urmare a folosirii fenolului.



Joseph Lister (1827—1912)

Charles Nicolle (1866—1936) cercetează tifosul exantematic şi descoperă metoda de prevenire *(premiul Nobel, 1928)*.

Ronald Ross (1857—1932) introduce metode de profilaxie antimalarică *(premiul Nobel, 1902)*, iar *Mihai Ciucă* (1883—1968) face ca România să fie prima ţară din lume care a realizat eradicarea malariei în anii puterii populare, 1956.

Max Theiler (premiul Nobel din 1951), pentru descoperiri în domeniul luptei împotriva febrei galbene.

Prevenirea contaminării şi distrugerea microbilor de contaminare prin *sterilizare* şi *folosirea antisepticelor* (substanţe chimice cu acţiune antimicrobiană) constituie azi metodele de lucru ale microbiologilor din industriile bazate pe procese de fermentaţie şi biosinteză, ale microbiologilor din laboratoare cu profil medical, ca şi ale chirurgilor, medicilor şi personalului medical în general; ideal este ca ele să devină practici de o cît mai generală aplicare în viaţa de toate zilele, reprezentînd *principiile prevenirii infecţiei prin mijloace nespecifice.*

*

Pasteur abordează şi cercetarea posibilităţilor de prevenire specifică a infecţiilor şi pune bazele imunoprofilaxiei descoperind principiul imunizării active, cu vaccinuri vii atenuate: prepară vaccinul antiholera găinilor, vaccinul anticărbunos şi, mai ales, antirabic. Studiind turbarea (rabia), creează primul model experimental de cercetare a unui virus (inocularea intracerebrală la iepure, 1881) şi realizează vaccinul din ţesut nervos provenit de la iepurii morţi de turbare.

Francezii au onorat pe savant şi patriot, construindu-i la Paris, prin subscripţie publică, la care au participat şi străini, institutul care îi poartă numele, în care şi pentru care a lucrat pînă în ultimele lui zile, şi pe care l-a inaugurat în 1888.

Al doilea institut de microbiologie din lume a fost creat de *Mecinicov* la Odesa, al treilea va fi Institutul de Bacteriologie (azi Institutul ,,V. Babeş'') creat de *Victor Babeş* la Bucureşti în 1888, urmat de institutul creat de *Ion Cantacuzino* (1902) şi care de asemenea îi poartă numele.

Prin descoperirile sale epocale, *Pasteur* a dezvăluit omenirii atît cauza infecţiilor ca şi cele două mari categorii de mijloace de care dispune medicina pentru prevenirea bolilor infecţioase, metodele nespecifice care constau în evitarea contaminării şi metode de ridicare a rezistenţei organismului prin vaccinare.

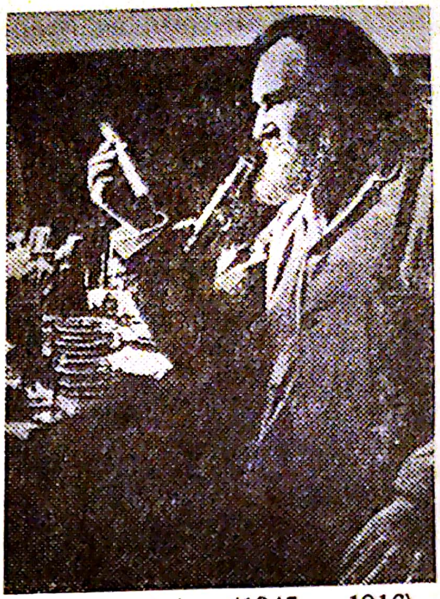
Metodele de prevenire sînt azi principii ale tuturor ramurilor medicinei: ,,*Puţine domenii ale medicinei . . . sînt de o mai mare importanţă pentru un individ sau pentru o întreagă populaţie decît este practica inteligentă a medicinei preventive*'' (*Harrison's Principles of Internal Medicine*, 1974).

Roux şi colaboratorii au demonstrat existenţa bacteriilor toxigene (1888 — 1889), determinarea bolii de către un unic produs bacterian, toxina, cercetări care au dus la prepararea vaccinurilor din toxine, la descoperirea anatoxinei de către *G. Ramon* în 1923.

Tot în această perioadă **este iniţiat studiul mecanismelor fundamentale ale imunităţii,** *Pfeiffer, Isaeff, Durham, Grabar* etc.

Cercetările iniţiate de *Babeş* în rabie, apoi de *Bordet, Behring, Kitasato, Roux, Nocard, Martin, Chaillou*, au pus bazele imunoterapiei în tetanos şi difterie; *primul premiu Nobel pentru cercetări în domeniul medicinei, în 1901, a fost acordat lui Emil A. v. Behring*, pentru cercetările sale în acest domeniu.

Emile Roux (1853—1933)


Ilia Mecinicov (1845 — 1916)

Ilia Mecinicov (1845—1916) descoperă rolulfa gocitelor în apărarea naturală împotriva infecţiilor şi scrie prima carte despre imunitate *(premiul Nobel, 1908)*.

Charles Richet (1850—1935), pornind de la reacţia organismului faţă de toxine, descoperă anafilaxia *(premiul Nobel din 1913)*; *Karl Landsteiner (premiul Nobel, 1933)* a dat formularea chimică a specificităţii imunologice, domeniu de cercetare pentru care *Burnet* şi *Medawar* primesc *premiul Nobel din 1960* (studiul toleranţei imunologice).

Porter şi *Edelman* au făcut importante descoperiri privitoarel a structura, compoziţia şi acţiunea moleculelor-anticorp în organismul uman *(premiul Nobel, 1972)*. După cum reiese, imunologia şi imunopatologia se dezvoltă concomitent cu, şi datorită dezvoltării microbiologiei.

*

Paul Ehrlich (1854—1915) **iniţiază o altă linie a cercetărilor microbiologice, căutînd cu tenacitate „glonţul magic" substanţă toxică antibacteriană, dar netoxică pentru organismul uman,** posibil a fi folosită ca medicament antibacterian; definiţie elaborată de el înainte de a descoperi primul chimioterapic, reprezentat de Salvarsan, folosit în tratamentul sifilisului şi a altor spirochetoze *(premiul Nobel, 1908)*, pînă la descoperirea penicilinei.

Gerhard Domagk (1895—1964), studiind infecţia streptococică experimentală, descoperă sulfamidele care deschid o eră nouă în terapia bacteriozelor *(premiul Nobel din 1939)*.

Alexander Fleming (1881—1955), microbiolog de laborator de spital, descoperă penicilina (1928—1929); împreună cu chimistul *Chain* şi microbiologul *Florey*, *premiul Nobel din 1945*.

S. M. Waksman, microbiolog, născut lîngă Kiev, descoperă streptomicina *(premiul Nobel, 1952)*.

*

Cercetări epocale în genetica bacteriană şi virală, care au clarificat sistemele genetice în general, punînd bazele real ştiinţifice ale acesteia, au fost realizate de *Beadle*, *Tatum* şi *Lederberg (premiul Nobel, 1958)*, de *Ochoa* şi *Kornberg (premiul Nobel, 1959)* care descoperă mecanismul sintezei ADN şi ARN, de *Jacob*, *Lwoff* şi *Monod (premiul Nobel din 1965)* care descoperă reglarea genetică a sintezei enzimelor şi virusurilor, de *Holley Khorana* şi *Nirenberg (premiul Nobel din 1968)* care au făcut interpretarea codului genetic şi a rolului lui în sinteza proteinelor, de *Delbruck*, *Hershey* şi *Luria (premiul Nobel, 1969)* care au pus bazele biologiei moleculare prin studiul relaţiei virus-celula, de *Claude A.*, de *Duve C.* şi *Palade G*, savant de origine română, care au descoperit rolul ribozomilor în sinteza proteinelor *(premiul Nobel din 1974)*.

*

În dezvoltarea microbiologiei ca ştiinţă, un aport important a fost adus de mulţi **savanţi români:**

Victor Babeş (1854—1926) este fondatorul microbiologiei româneşti, primul profesor de microbiologie la Facultatea de medicină din Bucureşti, membru corespondent al Acad. de Med. din Paris. Primul microbiolog care susţine posibilitatea imunizării cu ser provenit de la animale vaccinate, iniţiatorul *seroterapiei*. Impreună cu *Victor Cornil*, a scris primul tratat de Bacteriologie: *„Les bactéries et leur rôle dans l'étiologie, l'anatomie et*

Victor Babeș (1854—1926)

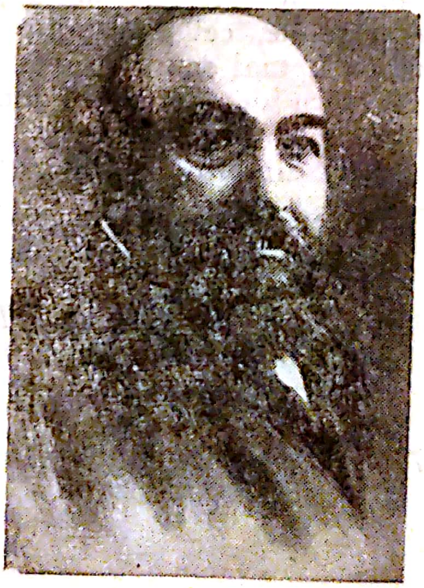
Ion Cantacuzino (1863 — 1934)

l'histologie pathologiques des maladies infectieuses, 1890. A descoperit peste 40 de microorganisme patogene, descoperiri a căror importanță este subliniată de către sistematicieni prin crearea grupului taxonomic care îi poartă numele : familia *Babesiide.*

A studiat turbarea și vaccinarea antirabică, morva, lepra, numeroase parazitoze. A introdus, pentru prima dată la noi în țară, seroterapia antidifterică etc. A pus în evidență incluziile specifice turbării în citoplasma neuronului bolnav (1896, incluziile Babeș-Negri) și existența, în sîngele vaccinaților, a unui factor cu acțiune neutralizantă față de virusul rabic (1886).

Ion Cantacuzino (1863—1934), colaborator al lui *Mecinicov*, a organizat școala românească de microbiologie și a înființat Institutul de seruri și

Constantin Levaditi (1874—1953)



Alexandru Slătineanu (1873—1939)

Petre Condrea (1888—1967)

vaccinuri. În acest institut a preparat vaccinul antitifoparatific, vaccinul antiholeric, anticărbunos, vaccinul antituberculos B. C. G. (țara noastră fiind a doua din lume care a folosit acest vaccin) etc.

Constantin Levaditi (1874—1953), colaborator al lui *Babeș* și *Mecinicov*, în peste 750 lucrări a studiat probleme de bacteriologie, imunologie, chimioterapie și în special virusologie; a introdus bismutul în chimioterapia sifilisului.

Numele savanților români *C. Levaditi*, *St. S. Nicolau*, *N. Constantinescu*, sînt legate de perioada inițială a dezvoltării noțiunilor clasice de virusologie (tropismul virusurilor, incluziogeneza, morfopatologia virozelor, cultivarea în laborator etc.); au creat școala românească de virusologie.

Alexandru Slătineanu (1873—1939), primul profesor de microbiologie la Iași, a studiat epidemiologia tifosului exantematic, malaria, febra tifoidă, scarlatina, lepra, tuberculoza etc., a organizat școala de microbiologie din Iași.

Petre Condrea (1888—1967) a efectuat studii privind anatoxinele tetanică și difterică, a preparat anatoxine cu o înaltă valoare vaccinantă, a militat pentru vaccinarea antitetanică obligatorie a gravidelor, ceea ce avea să conducă în zilele noastre la generalizarea acestei vaccinări în masa populației; a studiat tularemia în țara noastră; a reorganizat școala de microbiologie de la Iași, după cel de al doilea război mondial, a organizat Filiala din Iași a Institutului Cantacuzino etc.

•

Am menționat doar puțini dintre savanții care au jalonat dezvoltarea microbiologiei și a imunologiei. Ponderea cercetării lor în dezvoltarea științelor medicale este subliniată și prin aceea că, dintre numeroasele specialități medicale, cel mai mare număr din *premiile Nobel* pentru fiziologie și medicină, mai mult de o treime, a fost acordat cercetătorilor din laboratoare pentru descoperiri în domeniul microbiologiei, imunologiei, geneticii microbiene, profilaxiei și terapiei antiinfecțioase. Astfel, Universitatea Karolinska din Stockholm a atribuit *premiul Nobel* pentru medicină în:

1975 cercetătorilor *Baltimore D.*, *Temin H.* și *Dulbecco R.*, pentru studiul interacțiunii dintre acizii nucleici ai virusurilor cancerigene și genomul celular;

1976, profesorului *Gajdusek D. C.*, pentru studiul encefalopatiei virale subacute spongiforme (boala Kuru) și profesorului *B. S. Blumberg* pentru descoperirea antigenului Australia și a rolului în biologia hepatitei B, și

1977, cercetătorilor *R. S. Jallow* și *S. A. Berson* pentru realizarea tehnicii de radioimundozare.

LISTA PRESCURTĂRILOR FOLOSITE ÎN TEXT

A. = antibiotic (-e) : A = ampicilină
    B = bacitracină
    C = cloramfenicol
    G = gentamicină
    K = kanamicină
    M = macrolid
    N = neomicină
    P = penicilină
    Po = polimixină
    Riph = rifamicină(-e)
    S = streptomicină
    Su = sulfamidă
    T = tetraciclină(-e)
aa = aminoacid
Ac = anticorp
ADN (sau DNA) = acid dezoxiribonucleic (cDNA = DNA complementar)
AF = 1) anticorp fluorescent; 2) factor de agregare
Ag = antigen
AN = acid nalidixic
APC = antibiograma pe cultură primară
aprox. = aproximativ

b = bacterie
b. f. i. = bacterie facultativ intracelulară
b. o. i. = bacterie obligator intracelulară
B. K. = bacilul lui Koch

C (sau C') = complement
cca = circa
CEA = antigen carcinoembrionar
Ch = chimioterapic (-e)
CIC = celula imunocompetentă
CM = carboximetil (celuloză)
CMC = citotoxicitate mediată de celule (limfoide)
CMCDA = citoliză mediată de celule dependentă de anticorp

colonie ,,M" = mucoidă
colonie ,,R" = *rough* (rugoasă)
colonie ,,S" = *smooth* (netedă)

DDT = diclor-difenil-tricloretan
DEAE = dietilaminoetil (-celuloză)
DI = (mutant) defectiv interferent
DI 50 = doza infectantă 50%
DL 50 = doza letală 50%
DNA (sau ADN) = acid dezoxiribonucleic
DNază = dezoxiribonuclează

,,E" = ,,endotoxină"
EDTA = etilendiaminotetraacetat
ELISA = test cu imunosorbent legat (marcat) cu enzimă
e. b. s. = endocardita bacteriană subacută.

FR = 1) factor reumatoid; 2) formă replicativă
FSMC = fenomen de sensibilizare mediat de celule
FT = factor de transfer (bacterian)

ggl = ganglion limfatic
gr. mol. = greutate moleculară

HBcAg = antigen hepatitic B central *(core)*
HBsAg = antigen hepatitic B de suprafaţă

i. d. r. = (sau IDR) = intradermoreacţie
IMC = imunitate mediată de celule
ITU = infecţia tractului urinar
IU = imunitate umorală
i. v. = intravenos

L = limfocit
LAF = factor de activare a limfocitelor
LAM = leucemie acută mielocitică (sau mielocitară)
LCR (sau l. c. r.) = lichid cefalorahidian
LMP = leucoencefalopatie multifocală progresivă
LPS = lipopolizaharid
LSS (sau L. s. s.) = limfocit specific sensibilizat
LT = limfotoxina

m. = microorganism (-e)
M = macrofag
MAF = factor de activare a macrofagelor
m. c. p. = membrana citoplasmatică
m. e. = microscop electronic
(2-)ME = (2-) mercaptoetanol
MIF = factor de inhibare a migrării
MF = factor mitogen
m. b. g. = membrana bazală glomerulară.
M. C. S. E. = meningită cerebrospinală epidemică

NANA = acid N-acetilneuraminic

PAGE = electroforeză în gel de poliacrilamidă
PCB = (mediul) cartof-morcov-bilă
PF = factor de permeabilitate
PFU = unitate formatoare de plajă
PHA = fitohemaglutinină
pI = punct izoelectric
PIF = factor de inhibare a proliferării
poli rI : poli rC = acid poliriboinosinic-acid poliribocitidilic
pp = polipeptid

RAI = reactivitate autoimunitară
RDE = enzimă distrugătoare de receptori
RFC = reacţie de fixare a complementului
RIA = radioimunotestare *(assay)*
RIH = reacţie de inhibare a hemaglutinării
RIP = radioimunoprecipitare
RNA (sau ARN) = acid ribonucleic; mRNA = RNA mesager
RNază = ribonuclează

SCIC = sistem celular imunocompetent
SDS = dodecilsulfat de sodiu
SLS = lauroil sarcosinat de sodiu
SM = scleroză multiplă
SMAF = factor de armare specifică a macrofagelor
SNC = sistem nervos central
SpA = proteina A stafilococică
SRE = sistem reticulendotelial
SRID = imunodifuzie monoradială
SSPE (sau PESS) = panencefalită sclerozantă subacută

TCID 50 = doza infectantă 50% pentru culturi de celule
TF = factor de transfer (limfokină)
TG = tractul genital; TGF = tractus genital la femeie
TIMM = test de inhibare a migrării macrofagelor
TRI = tractul respirator inferior
TRIS = tris (hidroximetil)-aminometan
TRS = tractul respirator superior
ts = (mutant) sensibil la temperatură
TSTA = antigen specific tumoral de transplantare
TTL = test de transformare blastică a limfocitelor
TU = tractus urinar

V—Ac = virus—anticorp
V—Ac—C = virus — anticorp — complement

Virusuri:

AEV = virusurile eritroblastozei aviare
ALV = virusurile limfomatozei aviare
AMV = virusurile mieloblastozei aviare

CML = (virusul) choriomeningitei limfocitare
CMV = virusul citomegalic
Col SK = (virusul) Columbia SK
EBV = virusul Epstein-Barr
EMC = (virusul) encefalomielocarditei
FeLV = virusurile leucozelor felinelor
FeSV = virusurile sarcomelor felinelor

GALV = virusul leucemiei maimuței gibbon
HSV-1 = virusul herpes simplex tip 1
HSV-2 = virusul herpes simplex tip 2
IHR = imunohemoliză radială

LDV = virusul dehidrogenazei lactice
MHV = virusul hepatitei murine
MLV sau MuLV = virusurile leucozelor murine
MLV-F = virusul leucozei murine Friend
MLV-G = virusul leucozei murine Gross
MLV-M = virusul leucozei murine Moloney
MLV-R = virusul leucozei murine Rauscher
M-PMV = virusul tumorii mamare Mason-Pfizer
MSV = virusurile sarcomului murin
MTV = virusul tumorii mamare (Bittner)

NDV = virusul bolii din Newcastle

RS = (virus) respirator sincițial
RSV = virusul sarcomului Rous
SiSV = virusul sarcomului mamar simian
SV 40 = virusul simian 40
VEE = (virusul) encefalitei ecvine de Venezuela
VSV = virusul stomatitei veziculare

Partea I

NOȚIUNI DE MICROBIOLOGIE GENERALĂ

„În lumea microbilor, omul are cel puțin tot atîția prieteni cîți dușmani“ (*A. J. Kluyver*, 1924).

I. OBIECTUL MICROBIOLOGIEI ŞI SISTEMATICA MICROORGANISMELOR

A. NOŢIUNI DE TAXONOMIE

Lumea vie a fost împărţită de Linné (1707—1778) în regn animal şi vegetal, unitatea structurală a lumii vii fiind celula*. Cu cît speciile animale şi vegetale sînt mai mici şi trec spre lumea invizibilă, a microorganismelor, cu atît asemănările dintre ele sînt mai mari, organismul fiind redus la o celulă. Se diferenţiază microorganisme în majoritate mobile, care prin structură şi fiziologie aparţin regnului animal, alcătuind diviziunea PROTOZOA, şi microorganisme imobile aparţinînd regnului vegetal denumite ciuperci inferioare, fungi sau MYCETES. Protozoarele şi micetele sînt microorganisme unicelulare cu organizare *eucariotă* (nucleu adevărat).

O imensitate de alte specii unicelulare numite *bacterii*, mai mici şi mai rudimentare ca organizare, sînt caracterizate de: *nucleul procariot* (care le diferenţiază atît de microorganismele vegetale cît şi de cele animale), *existenţa unui perete celular* (ceea ce le diferenţiază de protozoare), *o structură chimică specială a peretelui* (diferită de aceea a peretelui de tip vegetal al micetelor). *Diferenţele esenţiale structurale şi fiziologice şi multitudinea de specii a determinat încadrarea bacteriilor într-un al 3-lea regn al lumii vii, regnul* PROCARYOTAE**.

În afara microorganismelor celulare, o a patra categorie sînt *virusurile*, corpusculi submicroscopici cu structură şi mai rudimentară, subcelulară, lipsite de perete şi alte componente citoplasmatice caracteristice bacteriei, constînd dintr-un element genetic, RNA sau DNA, cu o fiziologie cu totul particulară, lipsite de sistem enzimatic, parazitînd obligator alte celule, fie celule animale, fie vegetale, sau bacterii; ele alcătuiesc cel de al 4-lea regn al lumii vii numit VIRA (tabel 1).

Fiecare din aceste 4 grupe de microorganisme*** cuprinde zeci de mii de specii.

Specia este unitatea taxonomică şi corespunde populaţiilor de indivizi cu numeroase proprietăţi comune, numite *caractere cu specificitate de specie*, care le disting de alte specii; în sînul speciei pot fi diferenţiate,

---

* *Teoria celulară*: generalizare teoretică emisă de *Schwan*, în 1839.

** „Bergey's manual of Determinative Bacteriology", 1974, reprinted 1975.

*** Termen înlocuit uneori în vorbirea curentă cu acela de „germen" — „germeni", care corespunde de fapt unei noţiuni mult mai largi ce se referă la stadiul precoce de dezvoltare al oricărui organism: *sămînţă*, *spor*, *ou*, *microb* . . .

Tabelul 1

Încadrarea microorganismelor în lumea vie

I. Regnul VEGETAL

- PLANTE SUPERIOARE
  - *Spermatophyta* (Plante cu semințe)
  - *Pteridophyta* (Ferigi)
  - *Bryophita* (Mușchi)
- PLANTE INFERIOARE *Thalophyta* *MICETES*
  - *Phycomicetes*
  - *Ascomicetes*
  - *Bazidiomycetes*
  - *Deuteromycetes*

II. Regnul ANIMAL

- *METAZOA* *
  - *Plathelminthes*
    - *Trematoda*
      - *Fasciola hepatica*
      - *Dicrocoelium lanceatum*
      - *Opistorchis felineus*
    - *Cestoda*
      - *Taenia solium*
      - *Taenia saginata*
      - *Diphyllobothrium latum*
      - *Echinococcus granulosus*
      - *Hymenolepis nana*
  - *Annelida*: *Hirudo medicinalis*
  - *Nemathelminthes*
    - *Ascaris lumbricoides*
    - *Oxyuris vermicularis*
    - *Trichuris trichiura*
    - *Trichinella spiralis*
    - *Ancylostoma duodenale*
    - *Strongyloides stercoralis*
  - *Arthropoda*
    - *Arachnide*
      - *Araneide*
      - *Acarieni*
        - *Ixodes*
        - *Sarcoptes*
        - *Argas*
    - *Insecte*
      - *Anopheles maculipennis*
      - *Culex pipiens*
      - *Musca domestica*
      - *Sarcophaga carnaria*
      - *Lucillia sericata*
      - *Pediculus humanus*
      - *Pulex iritans*
      - *Xenopsilla cheopis*
      - *Cimex lectularius*

MICROORGANISME

- *PROTOZOA*
  - *Flagellata* (*Mastigophora*)
  - *Rhizopoda* (*Sarcodina*)
  - *Sporozoa*
  - *Infuzoria* (*Ciliophora*)

III. Regnul PROCARYOTAE

- Divizia I: *Photobacteria*
  - Clasa I *Photobacteria* albastre-verzi
  - Clasa II *Photobacteria* roșii
  - Clasa III *Photobacteria* verzi
- Divizia II: *Scotobacteria*
  - Clasa I *Bacteria*
  - Clasa II *Rickettsias*
  - Clasa III *Mollicutes*

IV. Regnul VIRA

- Dezoxiribovirusuri
- Ribovirusuri

---

* Metazoare de interes medical; helminți producători de boli și insecte vectoare a unor microorganisme de la o gazdă vie la alta; studiate împreună cu protozoarele în cadrul *Parazitologiei*.

prin caractere distinctive, categorii taxonomice mai mici, *subspecii*, *tipuri*, *variante*, alcătuite din *tulpini*.

Genul este alcătuit din una sau mai multe specii pe baza unor caractere comune, asemănări, numite *caractere specifice de gen*; dacă un gen este alcătuit din mai multe specii, una reprezintă *specia-tip* a genului.

Caractere și mai generale reunesc genuri în *triburi*, triburile în *familii*, familiile în *ordine*, ordinele în *clase*, clasele în *divizii*.

Taxonomia microorganismelor nu este terminată; la bacterii există genuri și familii ce nu au putut fi încadrate în grupe taxonomice superioare (tabel 37).

Aceste grupări taxonomice se bazează pe descoperirea filiației genetice a speciilor, sistematizare care necesită definirea și computerizarea unui număr cît mai mare de caractere, expresii fenotipice a genelor.

Se apreciază că o bacterie are aproximativ 1.000 de gene; teoretic, identificare înseamnă punerea în evidență a expresiilor fenotipice a acestora prin teste de identificare, ceea ce este foarte laborios. Pe de altă parte, numărul de specii este foarte mare, variantele în sînul speciilor de asemenea, iar variații ale oricărui caracter apar continuu. Ca urmare, un microb *izolat* și desemnat la un moment dat ca *tulpină-tip*, nu este în mod necesar tipul cel mai reprezentativ al speciei din care face parte.

A fost elaborată posibilitatea *taxonomiei numerice* pentru desemnarea tulpinilor-tip, prin calcularea mediei ipotetice a caracterelor, bazată pe studiul frecvenței de apariție a caracterelor și a valorilor de asemănare între tulpini, determinate pe număr cît mai mare de tulpini; teorie criticată pentru faptul că o astfel de tulpină-tip ar fi o abstracție matematică și nu în mod necesar o realitate.

În realitate, tulpina-tip a unei specii este aceea care se întîlnește cu cea mai mare frecvență în natură; numeroase variante cu grade diferite de asemănare cu tulpina-tip există de asemenea.

Aceste metode sînt azi tot mai mult înlocuite prin tehnici foarte elaborate și mult mai fidele de clasare bazate pe analiza genetică, măsurarea procentelor de molecule guanină-citozină (G—C) în acidul dezoxiribonucleic (DNA) microbian, a omologiei DNA—RNA, a compoziției chimice a peretelui bacterian etc.; reclasări vor apărea în baza acestor metode.

Tulpina este reprezentată de un grup de indivizi, populație, care posedă în comun unul sau unele caractere prin care se disting de alte populații ale aceleiași specii, numite *caractere cu specificitate de tulpină*.

Punerea în evidență a caracterelor de tulpină permite depistarea sursei comune a unor infecții; de ex: demonstrarea identității de tulpină a speciei *S. aureus*, izolată de la mai mulți bolnavi, permite adesea depistarea sursei comune de îmbolnăvire; acest aspect are mare importanță epidemiologică: *sterilizarea sau izolarea sursei permite stingerea epidemiei**.

Posibilitatea apariției de noi și noi variații în sînul speciei necesită, pentru identificarea cît mai precisă a unui nou „izolat”, raportarea la caracterele *tulpinii de referință*, numită și *tulpină-tip a speciei***.

---

* Este unul din cele mai frumoase exemple de profilaxie, marele ideal al medicinei moderne.

** *Tulpinile de referință a speciilor* sînt păstrate în colecții naționale și internaționale de culturi de bacterii, fungi, virusuri (*World Federation of Culture Collections*).

Izolat *este numită orice cultură microbiană obținută dintr-o populație microbiană* (de la bolnav, de la sănătos, din mediul extern — apă, sol, aer etc.) prin însămînțare pe medii de cultură artificiale, sau inoculare pe celule-organisme vii, în condiții de laborator, *pînă la identificarea ei ca specie, sau gen.*

Pentru a realiza identificarea unui *izolat* sînt necesare culturi pure, populațiile microbiene în condiții ecologice naturale fiind cel mai adesea mixte :

— *cultura* reprezintă totalitatea indivizilor microbieni crescuți într-un mediu de laborator artificial (bulion), sau natural (embrion de găină) ;

— *cultura pură* este aceea în care toți indivizii care o alcătuiesc sînt de cel mai înalt grad de puritate genetică ; în cazul bacteriilor (organisme procariote) și al virusurilor, cultura pură poate fi alcătuită din indivizi genetic identici, cînd este obținută prin metoda denumită *clonare* : cultură inițiată de *un individ microbian* (descendenții unui singur individ).

În practică, identificarea izolatului este totdeauna parțială, profunzimea identificării variază cu scopul :

în scop epidemiologic și profilactic, pentru demonstrarea filiației cazurilor de îmbolnăvire, este necesară cunoașterea caracterelor de tulpină. Chiar în acest caz, este inutilă punerea în evidență a unui cît mai mare număr de caractere prin cît mai multe teste* ; numărul de teste trebuie să fie cît mai redus dar cît mai logic selectat în funcție de scopul urmărit ; de exemplu, lizotiparea sau tiparea fagică este necesară pentru stabilirea identității tulpinilor de *Salmonella typhi* izolate dintr-o epidemie ;

în scop medical terapeutic, identificarea de tulpină nu este necesară :

— uneori microbul infectant este definit ca specie numai prin semnele bolii, adesea suficiente pentru alegerea terapiei (sifilis) ;

— alteori, sînt necesare doar cîteva criterii, numite *criterii de implicare etiologică*, pentru a preciza dacă *izolatul este în adevăr infectantul* (și nu un contaminant întîmplător ajuns în mediul de cultură din aer, de pe tegumentele bolnavului etc.) ; odată stabilit că izolatul este infectantul, *determinarea sensibilității la antibiotice este suficientă pentru terapie* ;

— alteori, un aspect morfologic, alături de sursa produsului patologic permit identificarea speciei (diplococi gram-negativ prezenți în secreție uretrală = *Neisseria gonorrhoeae* etc.) ;

— în alte cazuri, numărul criteriilor necesare identificării este foarte mare *(Enterobacteriaceae)*.

Microbiologul avizat folosește toate informațiile accesibile și un număr minim de teste diferențiale semnificative pentru identificarea speciilor.

---

* O frecventă slăbiciune a microbiologilor.

Există patru categorii de microorganisme (tabel 1):

1. PROTOZOA, protozoarele de interes medical fac parte din 4 clase, *Flagelata*, *Rhizopoda*, *Sporozoa*, *Ciliata*;

2. MYCETES, încadrate în 4 ordine, *Phycomycetes*, *Ascomycetes*, *Bazidiomycetes*, *Deuteromycetes*;

3. PROCARYOTAE (bacterii), cele peste 10 000 specii de procariote sînt împărțite în două divizii, *Photobacteria* și *Scotobacteria*. Bacteriile patogene fac parte din *Scotobacteria*, împărțită în trei clase: *Bacteria*, *Rickettsias* și *Mollicutes* (tabel 2). În acest material ne conducem după sistematizarea prezentată de ,,*Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*'' ediția 8, retipărită în 1975. În tabelul 37 este redată actuala încadrare a genurilor care cuprind specii patogene pentru om.

Nomenclatura bacteriilor (denumirile au terminații latinizate);

ordinele poartă denumiri cu terminația *-ales*;

familiile poartă denumiri cu terminația *-aceae*;

genurile au denumiri latinizate cu terminații diferite: *-um*, *-us*, *-a* etc. toate aceste denumiri se scriu cu literă mare (tabel 3 și 37);

specia este numită prin două cuvinte, primul fiind numele genului din care face parte (se scrie cu literă mare și poate fi scris prescurtat), al doilea este un adjectiv, epitet, caracteristic speciei și se scrie cu literă mică, *Staphylococcus aureus* sau *S. aureus*, *Bacillus anthracis* sau *B. anthracis*.

4. VIRA. Clasificarea virusurilor este în continuă perfectare; ea are la bază criterii ca:

specia gazdă, virusuri animale, vegetale, bacteriofagi, actinofagi;
tipul de acid nucleic care intră în constituția lor, RNA- și DNA-virusuri;
tipul simetriei structurale a capsidei, cubică, helicală; prezența de învelișuri etc.

Pentru nevoile diagnosticului de infecție, se menține o împărțire în raport de tropismul pentru anumite țesuturi sau organe: *virusuri respiratorii*, *enterovirusuri*, *neurovirusuri*, agenții *virozelor eruptive* etc.

Tabelul 2

Regnul *Procaryotae*

Divizia I: **Photobacteria** (procariote fototrope):
    Clasa I *Photobacteria* albastre-verzi (Cyanobacteria) *, fotosintetizante aerobe;
    Clasa II *Photobacteria* roșii
    Clasa III *Photobacteria* verzi
    (Clasa II și III:) fotosintetizante anaerobe (partea 1)**
Divizia II: **Scotobacteria** (procariote indiferente la lumină);
    Clasa I *Bacteria* (partea 2→17)**
    Clasa II *Rickettsias*, bacterii obligator intracelulare în celule eucariote (partea 18);
    Clasa III *Mollicutes*, bacterii lipsite de perete celular (partea 19)

(După *Bergey's manual of determinative bacteriology*, ediția a 8-a, 1974.)

---

* Foste alge albastre-verzi.

** În ,,Bergey's Manual'', 1974.

Tabelul 3

Categorii taxonomice utilizate în clasificarea bacteriilor (cu exemple)

Regn: *Procaryotae.*
Diviziuni: *Photobacteria, Scotobacteria.*
Clase: *Bacteria, Rickettsias, Mollicutes.*
Ordin: *Spirochetales, Actinomycetales* etc.
Familie: *Spirochetaceae, Spirillaceae, Vibrionaceae,* etc.
Trib: *Escherichieae, Klebsielleae, Proteae,* etc.
Gen: *Escherichia, Shigella, Proteus, Vibrio,* etc.
Specie: *Vibrio cholerae, Brucella abortus, Brucella melitensis,* etc.

- serotip: *Shigella dysenteriae,* serotip 1 (*S. shigae*);
- biotip: *Shigella dysenteriae,* biotip indol-pozitiv;
  Klebsiella pneumoniae, biotip 1 etc.
- lizotip (tip fagic): *Salmonella typhi* lizotip 1 etc.
- antibioticotip: *Staph. aureus* multirezistent la A și Ch (enunțare).
  - tulpină: populație de indivizi bacterieni cu genotip definit (același lizotip și/sau biotip și/sau antibiotip și/sau serotip);
  - clonă: populație descendentă dintr-un individ bacterian;
  - izolat: cultură pură neîncadrată (încă) taxonomic.

B. MICROBIOLOGIA CA OBIECT DE STUDIU

Din punctul de vedere al consecințelor pentru celelalte viețuitoare, microorganismele pot fi diferențiate în utile și dăunătoare.

1) **Microorganismele utile** sînt cele mai numeroase în natură, trăiesc libere sau ca saprobacterii saprofite și saprozoice, participînd la procese de sinteză, la variatele procese de descompunere a materiei organice; unele sînt folosite de om în foarte importante scopuri practice:

Microbiologia industrială studiază fermentațiile cu aplicații în industria alimentară (pîine, brînzeturi, băuturi), în industria textilă (topitul inului, cînepei, iutei), industria pielăriei (tăbăcărit); procese de biosinteză microbiană sînt utilizate la producerea industrială a acizilor organici, în industria farmaceutică la producerea de antibiotice, vitamine, aminoacizi, enzime etc., posibilități de mare importanță pentru medicină; se prevede utilizarea industrială a microorganismelor în obținerea de produse alimentare,...

Microbiologia solului studiază microorganismele de fertilizare a solului.

Microbiologia medicală, alături de înregistrarea pasivă a existenței *florei rezidente normale* a corpului și a acceptării rolului ei ca barieră antiinfecțioasă, a început studiul acesteia în scopul utilizării dirijate pentru stabilirea (la nou-născut) și restabilirea (la bolnav) a echilibrului ecologic normal la nivelul mucoaselor și al tegumentelor (în timpul tratamentelor cu antibiotice, colitelor, de exemplu). Bacteriofagii rămîn rezerve insuficient investigate pentru lupta împotriva bacteriilor patogene. Microorganismele reprezintă resurse neepuizate a căror utilizare așteaptă cunoașterea aprofundată a chimiei și fiziologiei lor.

2) **Microorganismele dăunătoare** sau *patogene* fac principalul obiect de studiu al *microbiologiei medicale, veterinare* și *vegetale* (ramură a fitopatologiei). Microbiologia are deci o sferă foarte largă cu cele mai variate profiluri, medical, agronomic, industrial, farmaceutic, și numai cele mai importante au fost menționate.

În concluzie, microbiologia este știința care studiază biologia microbilor, *microbiologia medicală* fiind doar o secțiune a acesteia, studiată în cadrul a patru subspecialități :

protozoologia medicală (secțiune a parazitologiei) ;
micologia medicală ;
bacteriologia medicală ;
virusologia medicală.

Bolile respective se numesc *protozooze* sau parazitoze, *micoze*, *bacterioze*, *viroze*.

BIBLIOGRAFIE

1. BĂDOI O. : *Victor Babeș, deschizător de drumuri în microbiologie, imunologie și terapie infecțioasă*. Lucrare de diplomă, Catedra de Microbiol., Bibl. IMF Iași, 1969.
2. BAER J. G., BERGER E., BRODHAGE H., GABROD L. P., GEIGY R., GBELL O., SEELIGER H. P. R. : *Pathogenic organisms and infectious diseases*. Ed. K. Diem, C. Lentner. Publ. Ciba-Geigy, 1971.
3. BOIVIN A., DELAUNAY A. : *L'organisme en lutte contre les microbes*. Ed. Gallimard, 1947.
4. BROCK T. : *Milestones in Microbiology*. Prentice-Hall, NY, 1961.
5. CEAUȘESCU I., MOHAN GH. : *Din viața și opera marilor biologi*. Ed. did. și ped., București, 1977.
6. CORNELL V., BABEȘ V. : *Les bacteries et leur rôle dans l'etiologie, l'anatomie e l'histologie pathologiques des maladies infectieuses*. Ed. 111, 1890.
7. COWAN S. T., STEEL K. J. : *Manual for the identification of medical bacteria*. Cambridge University Press, 1966.
8. DELAUNAY A. : *L'institut Pasteur*. Ed. France Empire, 1962.
9. MESROBEANU I. : *Ion Cantacuzino* : *Opere alese*. Ed. Acad. RSR., 1965.
10. UMBREIT W. W. : *Modern Microbiology*. Freeman and comp., San Francisco—London, 1962.
11. * * * : *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 8-th Ed. Buchanan R. E., Gibbons N. E. (co-editors), Williams and Wilkins Comp. Baltimore, 1974, reprinted 1975.

II. STRUCTURA, FUNCȚIONALITATEA ȘI ASPECTUL MICROORGANISMELOR PROCARYOTAE:

BACTERIA, RICKETTSIAS, MOLLICUTES

Dimensiuni. Dimensiunile microorganismelor se plasează sub limita vizibilității care este aproximativ 100 micrometri (µm) : microorganismele celulare se măsoară în µm, bacteriile tipice avînd în medie 1—8 µm lungime și 0,2—1,0 µm diametru (∅), micetele și protozoarele fiind mai mari ; virusurile se măsoară în nanometri (nm)* , (fig. 1).

Metode de vizualizare. Vizualizarea microorganismelor necesită microscoape. În raport cu puterea de rezoluție și modul de iluminare, microscoapele permit observarea microorganismelor vii sau omorîte, a conturului fiecărui individ, a așezării lor, a unor detalii de structură a celulei.

Microscoapele sînt de mai multe feluri :

Microscop optic sau fotonic care mărește de aproximativ 1000 ×, avînd puterea de rezoluție (capacitatea de a da imagini distincte pentru două puncte adiacente) 0,2 µm ; permite observarea ca formă și așezare a majorității microbilor, cu excepția virusurilor, atît în frotiuri colorate, cît și în preparate umede, ca și examinarea celulelor organismului superior pentru punerea în evidență a alterărilor produse prin infecție, a incluziilor intracelulare determinate prin dezvoltarea virusurilor etc. ; este cel mai folosit în practică.

Microscop cu fond negru, cu lumină indirectă (numit și „ultramicroscop"), are putere de rezoluție 0,1—0,2 µm ; permite examinarea organismelor celulare vii, în preparat umed, între lamă și lamelă.

Microscop cu raze UV, putere de rezoluție 0,1—0,2 µm, permite examinarea microbilor după impregnare cu substanțe fluorescente.

Microscop cu contrast de fază, are putere de rezoluție similară ; permite examinarea

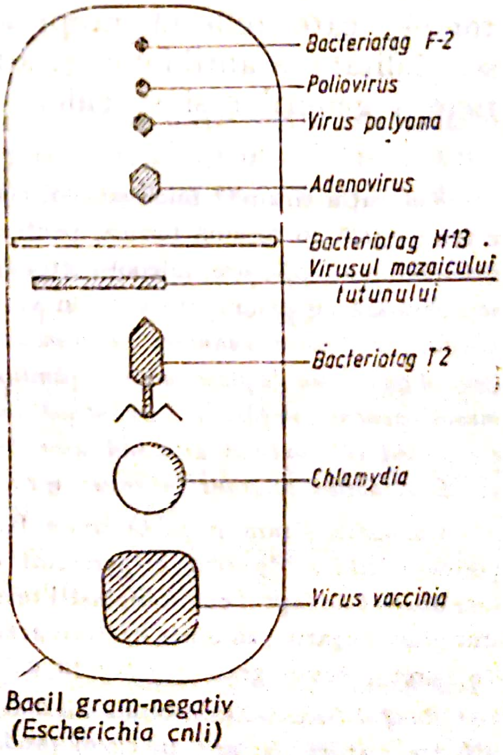


Fig. 1 : Dimensiuni comparative ale cîtorva categorii de microorganisme. (Modificat, după *B.D. Davis*, 1970.)

---

* 1 µm = 10^{-3} mm ; 1 nm = 10^{-3} µm.

celulelor vii, în preparate umede; pune în evidență unele detalii de structură internă a celulei, pe baza densităților diferite și a indicilor diferiți de refracție.

Microscop electronic (m. e.), are limite de rezoluție pînă la 0,1—1 nm, permite vizualizarea și a celor mai mici virusuri (20 nm ∅) ca și studiul structurii interne a microorganismelor.

Preparate microscopice. Pentru examinarea la microscop se folosesc fie suspensii din *culturi*, fie mici eșantioane obținute de la bolnav — *produse patologice* — sau din mediul extern (aliment, apă etc.). Examenul microscopic se poate face în:

— *preparate umede* (o picătură de suspensie depusă pe o lamă de sticlă și acoperită cu o lamelă) care evidențiază formă și mobilitate, și în

— *frotiuri colorate** : produsul de cercetat, la necesitate suspendat într-o picătură de soluție cloruro-sodică izotonică, este întins în strat subțire pe o lamă de sticlă, uscat la temperatura camerei, pentru a nu se altera forma microbilor, fixat prin căldură sau alcool, colorat.

Colorații. Pentru colorare sînt utilizate substanțe colorante care pătrund prin învelișuri și colorează protoplastul făcîndu-l vizibil la microscop. Se folosesc:

Colorații simple, colorare cu un singur colorant, tot ce există în frotiu (bacterii, fungi, celule inflamatorii, . . .) colorîndu-se într-o unică culoare.

Colorații diferențiale, cele mai utilizate deoarece colorează diferit microbi cu structuri de perete chimic diferite, împărțindu-le în categorii tinctoriale, care reflectă proprietăți biologice diferite (de patogenitate, de sensibilitate la antibiotice și altele), fiind cele mai utile metode de diferențiere a genurilor și speciilor:

Coloraţia Gram** foloseşte doi coloranţi de culori contraste (violet de metil, pentru colorarea iniţială, şi fucsină bazică, pentru recolorare), un mordant (soluţia Lugol) şi o soluţie de diferenţiere, decolorare, (alcool-acetonă) : (1) toate microorganismele celulare şi fondul frotiului se colorează cu primul colorant în violet; *colorantul traversează învelişurile şi colorează protoplastul*; (2) *prin mordantare se formează un complex colorant-iod*; (3) *unele bacterii nu se decolorează cu soluţia de alcool-acetonă rămînînd violete*, **gram-pozitiv**; *peretele lor este impermeabil pentru complexul colorant-iod solubilizat de alcool-acetonă*; *altele se decolorează complet, complexul colorant-iod difuzînd uşor prin perete este complet eluat*, (4) *şi vor fi recolorate cu cel de-al doilea colorant în roşu*, **gram-negativ**.

Coloraţia Gram împarte toate bacteriile în gram-pozitiv şi gram-negativ în raport cu permeabilitatea diferită a peretelui dependentă de structura lui diferită. Acest mecanism este atestat de faptul că protoplaştii tuturor bacteriilor şi speciile *Mollicutes*, bacterii fără perete, sînt gram-negativ; că unele bacterii gram-pozitiv, producătoare de enzime autolitice cu acţiune de perete, devin gram-negativ în culturi vechi.

Fondul frotiului (din celule cel mai adesea polimorfonucleare sau „celule de puroi", mucus, diferite resturi tisulare, în cazul produsului patologic, sau resturi de mediu de cultură) *este*

---

* Metodele de colorare omoară microbii.

** Pusă la punct de *Christian Gram*, bacteriolog danez, în 1884.

gram-negativ; dacă frotiul este bine făcut, subţire, şi coloraţia corect executată, *reprezentînd un important martor de colorare**. (Toţi fungii sînt gram-pozitiv; toate protozoarele sînt gram-negativ.)

Coloraţia Ziehl-Neelsen împarte bacteriile în alte două grupe tinctoriale reflectînd structuri diferite de perete: *acidoalcoolorezistente* (al căror perete foarte bogat în variate lipide devine permeabil pentru colorant — fucsina — numai prin încălzire şi rezistă apoi la decolorarea cu acid şi alcool care se face la rece, rămînînd colorate *în roşu*) şi *acidoalcoolonerezistente* (pierd culoarea roşie prin decolorare şi se recolorează cu al doilea colorant, *albastru* de metilen). Fondul frotiului este întotdeauna acidoalcoolonerezistent (albastru), fiind primul martor al unei bune coloraţii.

Coloraţiile speciale permit punerea în evidenţă a unor detalii de structură care prin metodele obişnuite nu se colorează (capsulă, spor) sau nu se văd deloc (cili, incluzii, nucleu); există coloraţii speciale pentru fiecare din aceste structuri. Unele bacterii, spirochetele, ca şi protozoarele, se colorează mai bine prin coloraţiile folosite pentru elementele figurate ale sîngelui, cum este *May Grünwald-Giemsa*.

Examinarea la m. e. necesită metode laborioase de preparare a probelor de examinat: impregnarea corpusculilor purificaţi cu acid fosfotungstic (opac la radiaţiile electronice), metode de metalizare (umbrire cu particule de aur, crom, platină, sau oxid de uraniu, obţinute prin vaporizare în vid). Se pot examina secţiuni ultrafine din ţesuturi după metode speciale de includere. Fimbriile bacteriene au fost evidenţiate numai la m. e.

A. CLASA BACTERIA

Definiţie. Bacteriile sînt organisme unicelulare asexuate, celula somatică fiind şi celula reproducătoare, procariote (cu nucleu alcătuit dintr-un unic cromozom), haploide (cu unic set de gene), divizibile în celule identice.

În anatomia bacteriei se diferenţiază:

structurile esenţiale oricărei celule, nucleu, citoplasmă şi membrană citoplasmatică, alcătuind *protoplastul* (cea mai rudimentară formă de existenţă a bacteriilor);

peretele bacterian rigid, structură caracteristică bacteriilor tipice, care protejează protoplastul (lipseşte la *Mollicutes*) şi

structuri neesenţiale pentru existenţa bacteriei, prezente numai la unele specii (*capsulă* sau cel de-al treilea înveliş, *cili*, *fimbrii*).

Sporul este forma de rezistenţă în care se pot transforma unele specii cînd se găsesc în condiţii neprielnice de înmulţire (fig. 2).

---

* Această clasificare este de o mare valoare taxonomică, dar coloraţia poate induce erori; ele pot fi evitate prin folosirea unui *martor de colorare*: amestec a două suspensii preparate din culturi tinere de *Bacillus subtilis* (bacil mare gram-pozitiv) şi *Serratia marcescens* (bacil mic gram-negativ). Cînd există un dubiu privind tinctorialitatea bacteriei de identificat, pe aceeaşi lamă, alături de frotiul de cercetat, se face şi un mic frotiu din martor; se colorează şi se examinează concomitent. (Acest martor poate fi înlocuit cu un frotiu făcut cu puţin produs raclat de la baza dinţilor proprii care conţine constant atît bacterii gram-pozitiv cît şi gram-negativ).

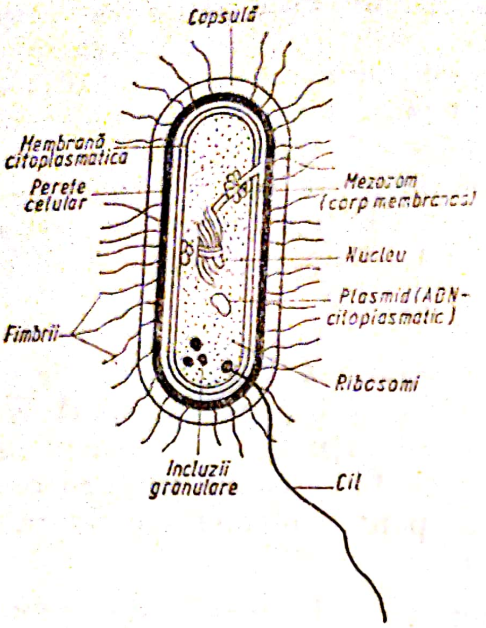

Capsulă
Membrană citoplasmatica
Perete celular
Mezozom (corp membranos)
Nucleu
Plasmid (ADN-citoplasmatic)
Fimbrii
Ribosomi
Incluzii granulare
Cil

Fig. 2: Structurile citologice ale bacteriei. (Schematizare cu completări după *Gillies* și *Dodds*, 1965)

Fig. 3: *B. subtilis*, bacterie gram-pozitiv. Se vede: peretele celular (CW), relativ gros; membrana citoplasmatică (CM), subțire; mezozom (M) legat de locul unde începe formarea septului transvers (TS) făcînd legătura între CM și nucleu (N). (Electronomicrografie: după *van Iterson*. Bact. Rev., 29 : 229, 1955).

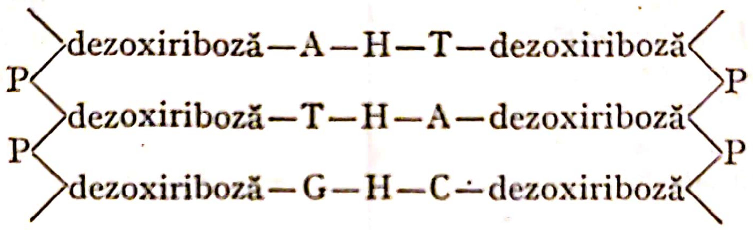
1. NUCLEUL BACTERIAN

Nucleul nu poate fi diferențiat prin metodele uzuale de colorare pentru că citoplasma bacteriilor are un foarte mare conținut în RNA (bazofil); existența lui a fost pusă în evidență abia în 1938 de *Dubos* și în 1942 de *Robinow* prin metode speciale de diferențiere*; ulterior, prin m. e. a fost confirmată existența nucleului. Fiecare bacterie este centrată de un nucleu; diviziunea lui precede pe cea a citoplasmei și peretelui, a celulei, din care cauză, în perioada de proliferare activă, pot apărea bacterii cu 2 și chiar 4 nuclei, în realitate bacterii pe cale de diviziune. La m. e., acești corpi nucleari apar ca gheme (sculuri de forme diferite), ocupînd cam o zecime din volumul bacteriei. Studiile de genetică bacteriană, metode de extracție și de autoradiografiere* au precizat că nucleul bacterian este alcătuit dintr-o unică moleculă de DNA dublu helicată cu lungime aproximativă de $1\,000-1\,400\,\mu m/2\,nm\,\varnothing$, formînd o ansă închisă, lipsit de înveliș proteic și de nucleol, denumit *cromozom bacterian*; el este legat de membrana citoplasmatică prin intermediul unei invaginații a acesteia numită mezozom (fig. 3).

---

* *Metoda Robinow-Feulgen*. Prin hidroliză acidă ușoară cu HCl/N la 60°C, timp de 10—15 min., este eliminat RNA citoplasmatic și totodată afinitatea deosebită a acestuia pentru coloranții bazici încît DNA nuclear, care rezistă, este intens colorat cu coloranți bazici: colorați cu acridină-oranj și examinați în lumină UV dau fluorescență verde-galbenă; colorați cu Giemsa și examinați cu microscopul optic apar roșu-violet.
Metoda Boivin: prin hidroliză enzimatică diferențială, cu ribo- sau dezoxiribonuclează, este distrus selectiv RNA și respectiv DNA; colorațiile ulterioare permit diferențierea nucleului de citoplasmă.
Metoda Unna: prin colorare cu pironină și verde de metil; RNA se colorează în roșu, iar cromatina în verde; aceste colorații dispar diferențiat la tratarea cu ribo- și dezoxiribonuclează.
Microscopia electronică (m. e.) permite vizualizarea nucleului pe secțiuni fine prin colorația negativă cu fosfotungstat de K.

Structura cromozomului. DNA este un polimer alcătuit din două lanțuri elicoidale complementare formate din succesiuni de mononucleotide (structură descoperită de *Rosalind Franklin* și de *Watson* și *Crick*, 1951—1953). Fiecare mononucleotid are în structura sa o *bază ciclică azotată*, fie purinică, adenină (A) sau guanină (G), fie pirimidinică, citozină (C) sau timină (T), un *zahăr* (dezoxiriboza) și *acid fosforic* (P) prin intermediul căruia mononucleotidele sînt legate între ele alcătuind polimerul. Baza azotată de pe o catenă se leagă de baza de pe cealaltă catenă prin legături slabe de hidrogen în baza unui stereochimism, A—T, G—C, ceea ce asigură complementaritatea celor două catene:


dezoxiriboză—A—H—T—dezoxiriboză
P
P
dezoxiriboză—T—H—A—dezoxiriboză
P
P
dezoxiriboză—G—H—C—dezoxiriboză

Succesiunea celor 4 baze pe o catenă poate avea loc în cele mai variate posibilități realizîndu-se diversități cvasiinfinite de secvențe mononucleotidice; o anumită secvență reprezintă o *genă*, inscripția unui anumit caracter al speciei în *genom*. Aproximativ 5×10^6 perechi de mononucleotide alcătuiesc cromozomul bacterian, ceea ce corespunde la aproximativ 1 000 de gene, codificînd tot atîtea caractere ce definesc specia.

Funcționalitatea nucleului bacterian. *Autoreplicarea.* Diviziunea bacteriei începe cu sinteza de nou DNA identic celui parental; prima etapă a procesului este desfacerea celor două catene ale moleculei DNA la nivelul legăturilor de H (fig. 5). Acest clivaj longitudinal începe dintr-un anumit punct, *punct de inițiere*, recunoscut enzimatic datorită secvenței nucleotidice specifice. Clivajul este urmat de asamblarea imediată pe fiecare catenă desfăcută (mulajul) a catenei complementare; sinteza identică a complementarului este dictată de bazele de pe catena-mulaj: A cere T, G cere C. Această sinteză are loc pe bază de precursori sintetizați *ad hoc* sau existenți.

În celulă apar două lanțuri bicatenare (identice între ele și identice cu parentalul) care se separă și migrează spre polii celulei (împreună cu mezozomii care s-au dedublat, probabil, concomitent cu nucleul). Această replicare a fost vizualizată prima dată de *Cairns* în 1963 prin autoradio-

---

* Marcarea DNA la bacterii în creștere cu atomi radioactivi de H^3-timidină, urmată de extracția nucleului și depunerea pe o membrană acoperită cu o emulsie fotografică, în condiții care permit desfășurarea nucleului; structura cromozomului este dedusă după developarea fotografică din distribuția granulelor de Ag (fig. 4).

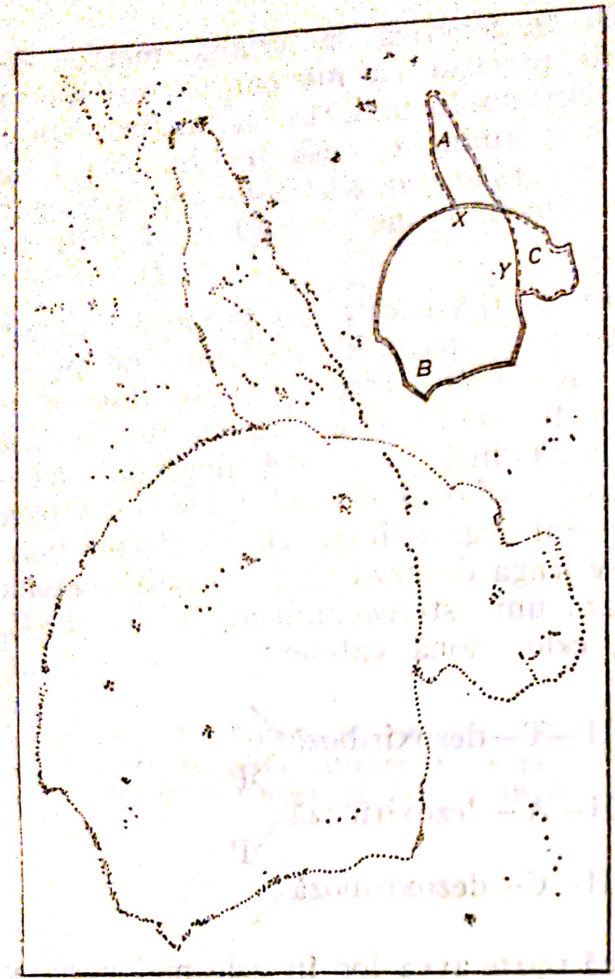


Fig. 4: Autoradiografia cromozomului de *Escherichia coli*, K_{12}, Hfr, marcat cu timidină tritiată timp de două generaţii şi extras cu lizozim (*J. Cairns*, 1962).

Se remarcă buclele (*A* şi *C*) formate din cei doi nuclei şi legarea lor prin punţile punctate (*x* şi *y*) de partea nereplicată încă a cromozomului iniţial (*B*). În schemă (dreapta sus), linia continuă reprezintă lanţul nucleotidic al ADN iniţial; linia discontinuă reprezintă lanţurile nou formate. (Reprodus din *J.C. Senez* „Microbiologie générale”, 1968).

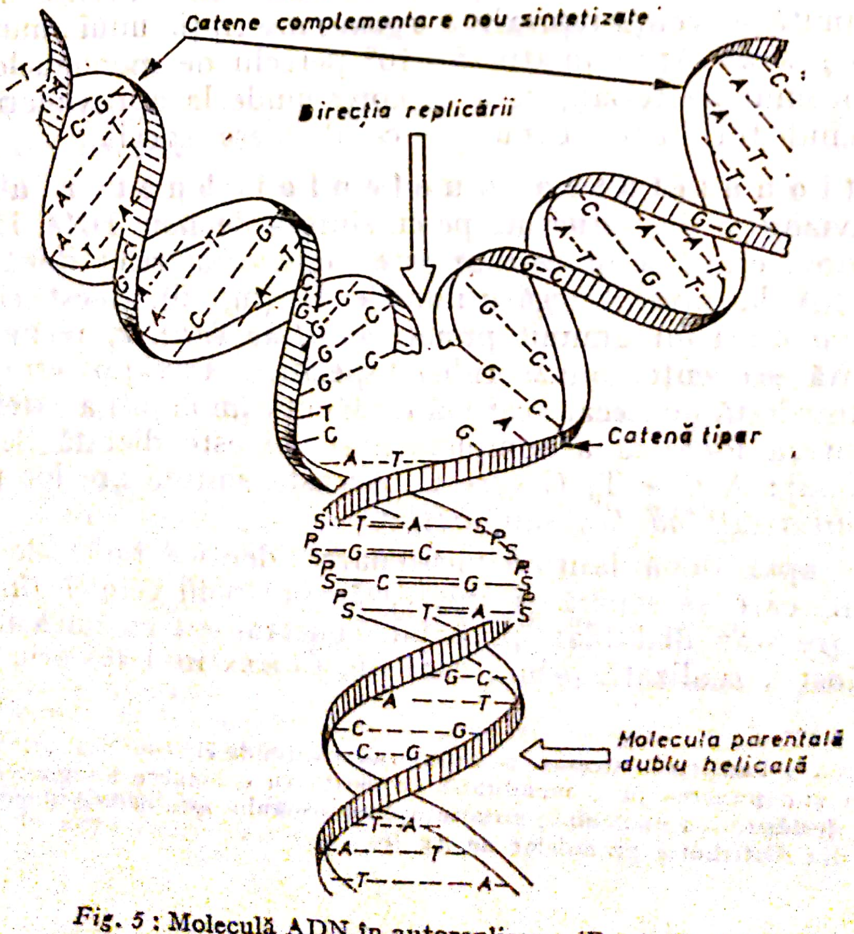

Catene complementare nou sintetizate
Direcţia replicării
Catenă tipar
Molecula parentală dublu helicală

Fig. 5: Moleculă ADN în autoreplicare. (După *Stent* 1963)

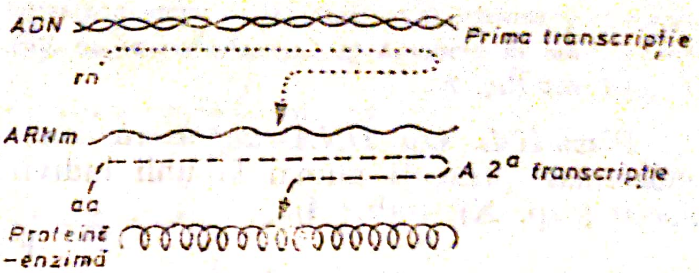


Fig. 6: Cele două transcripții: prima transcripție sau heteroreplicare (ADN→ARNm); a doua transcripție (ARNm → lanț polipeptidic, proteină enzimă). (după *Goullet*, 1964)

grafierea nucleilor proveniți din culturi bacteriene în plină activitate metabolică, marcați cu H^3-timidină (fig. 4).

Sinteza de DNA, în condiții optime de creștere, are loc continuu, fără perioadă de repaus între cicluri succesive (cap. IV, 3).

Heteroreplicarea (construirea de proteine funcționale — enzime — pe baza informației conținută în DNA) începe cu *prima transcripție* în structura RNA-ului mesager (RNA-m), numit și informațional (RNA-i): lanț unic de nucleotide, fiecare nucleotid avînd în structură *riboză*, o *bază azotată*, *G, C, A sau U* (uracil) și o moleculă de *acid fosforic*. Sinteza de RNA este catalizată de RNA-polimerază, pe modelul constituit de unul din lanțurile DNA: A leagă U, C leagă G (și invers). Moleculele de RNA-m migrează pînă la sediile de sinteză a proteinelor reprezentate de ribozomi, în citoplasmă, și acolo vor acționa ca tipare pentru asamblarea lanțurilor polipeptidice; numită *a doua transcripție* sau translația (fig. 6). Metaboliții liberi și enzimele difuzează liber din citoplasmă la filamentele de DNA.

2. CITOPLASMA

Structură. *Ribozomii.* La microscopul optic, citoplasma apare amorfă; la m. e. apare fin granulată datorită existenței a zeci de mii de granule mici de RNA reprezentînd *ribozomii* (RNA-r), de 10—30 nm (reprezintă 80—90% din tot RNA-citoplasmatic); sînt corespondenții funcționali ai microzomilor și poliribozomilor celulelor animale. Date recente arată că acești numeroși ribozomi nu ar fi cu totul liberi în citoplasmă, ci distribuiți pe o rețea foarte fină (ce ar adera de membrana citoplasmică) numită *reticul ribozomial*, echivalentul reticulului endoplasmic la eucariote.

În citoplasmă este prezent și RNA-t, reprezentînd 10—20% din RNA citoplasmic.

Mezozomii sau *corpii membranoși*, în număr de 1—2 la o bacterie, sînt formațiuni canaliculare (tubi, teci, vezicule) formate din invaginații ale membranei citoplasmice făcînd legătura între nucleu și perete; sînt echivalenții funcționali ai mitocondriilor, de unde și numele de *condrioizi*.

Incluzii. În afară de *organite*, în citoplasma unor bacterii, în raport cu substratul nutritiv și stadiul de dezvoltare, pot fi prezente *alveole* pline cu lichide și *incluzii* reprezentînd substanțe insolubile depozitate ca rezerve de C și energie, granulații de:

lipide, cele mai frecvente, se colorează cu negru-Sudan, de dimensiuni diferite;

polizaharizi (glicogen, amidon);

volutină (pusă în evidență pentru prima dată la *Spirillum volutans*) sînt corpusculi de polimetafosfat, numiți și *granulații metacromatice* deoarece unii coloranți, ca albastru de toluidină sau de metilen, le colorează în roșu violaceu, contrastînd cu albastrul protoplasmei;

prezența granulațiilor metacromatice reprezintă astfel un criteriu de diferențiere al anumitor specii. Puse în evidență la *Corynebacterium* de *Babeș* și *Ernst*, sînt denumite și corpusculi Babeș-Ernst (fig. 2).

Plasmidele sau DNA-citoplasmic sînt determinanți genetici extracromozomiali prezenți numai la unii indivizi bacterieni din sînul anumitor specii (cap. X), (tabel 4).

Tabelul 4

Structuri intracitoplasmatice la bacterii

- Structuri esențiale
  - organite celulare
    - mezozomi
    - ribozomi
    - reticul ribozomial (?)
- Structuri posibile
  - alveole cu lichide
  - incluzii de
    - lipide
    - glicogen
    - amidon
    - volutină
  - plasmide (ADN-citoplasmatic)

Funcționalitate. *Sinteza proteinelor-enzime* are loc la nivelul ribozomilor, reglată de genom prin RNA-m ; pe ribozom se face asamblarea lanțurilor polipeptidice (*pp*) din aminoacizi *(aa)*. Traducerea mesajului purtat de secvențele ribonucleotidice (RNA-m) în secvențe de *aa* este numită a *doua transcripție* (fig. 6) : *aa* de structură activați enzimatic sînt transportați din citoplasmă la ribozomi de molecule de RNA-s specifice fiecărui *aa*. Legarea *aa* în secvențe *pp* este dictată de mesajul adus de RNA-m conform unui cod.

Codul genetic. Din date experimentale s-a ajuns la concluzia că informația genetică necesară pentru inserarea unui *aa* este înscrisă în genom într-o secvență de trei nucleotide și tot astfel transcrisă în RNA-m ; codul fiecărui *aa* constă deci dintr-un *triplet nucleotidic*, numit *codon*. Deoarece sînt 4 baze nucleotidice, iar codonul este alcătuit din 3, dar care nu se suprapun, sînt posibile 64 (4^3) combinații. Experimental s-a găsit că 61 din cele 64 triplete codifică cei 20 *aa* necesari ; restul de 3 sînt semnalele pentru terminarea sintezei *pp*. Mai mulți codoni revin deci pentru un *aa*. Ca urmare, la nivelul ribozomilor are loc transcrierea unui limbaj cu 4 litere (A, G, C, T) într-un limbaj cu 20 litere (*aa* care intră în structura *pp*).

Procesul de copiere terminat, RNA este depolimerizat în ribonucleotide *(rn)*, iar secvența *pp* nou formată se pliază, realizînd structura terțiară a proteinelor-enzime (P_1, P_2), se detașează de pe ribozom, se eliberează în citoplasmă, ribozomul devenind disponibil pentru o nouă sinteză (fig. 7).

Reglarea sintezei proteinelor-enzime. Enzimele nu sînt produse continuu. Sinteza lor este dirijată printr-un mecanism de reglare care reprimă (oprește) sau autorizează (declanșează) diferitele sinteze înscrise în genom, *sistemul de inducție și represie enzimatică*. Conceptul și schema funcțională a reglării genetice a sintezei de enzime aparțin lui *Jacob*, *Lwoff* și *Monod* (1961), elaborate inițial pentru bacterii (fig. 7). Acest sistem presupune că alături de un număr de *gene de structură (gS)* succesive, care codifică sinteza unor anumite proteine-enzime (a unei funcții metabolice), există un *operator* sau genă operatoare *(g)* format dintr-un segment de DNA, de care depinde intrarea în funcție ,,transcripția'' genelor structurale adiacente (gS_1, gS_2) ; operatorul și grupa de gene structurale de care este legat spațial și funcțional constituie unitatea genetică numită **operon**. Fiecare operon este dublat de o *genă reglatoare* (gR) ; aceasta acționează prin elaborarea în citoplasmă a unei substanțe numită *represor* (R) care, acționînd asupra

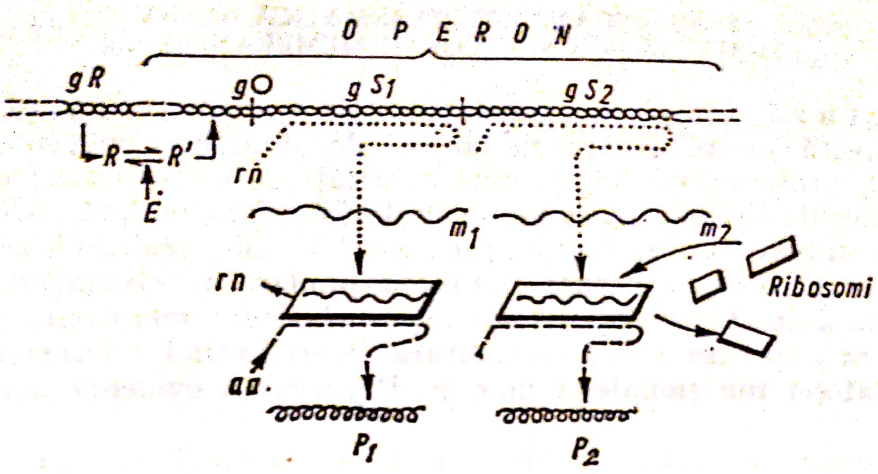


Fig. 7: Model general al reglării genetice a sintezei proteinelor-enzime
gR = gena reglatoare; E = efector; gO = genă operatoare; gS_1 și gS_2 = gene structurale; m_1 și m_2 = ARN-mesager; P_1 și P_2 = proteine sintetizate; rn = ribonucleotide; aa = aminoacizi. (*Jacob* și *Monod*, 1961).

operatorului, îl împiedică să declanșeze transcrierea la nivelul genelor de structură și astfel menține *reprimată sinteza proteinelor* (guvernată de genele structurale în subordine). Starea obișnuită a operonului ar fi deci *represia*.

Intrarea în funcție a operonului, *derepresia*, este indusă de *efectori* (E) prezenți în mediul de cultură, în organism uman (penicilina de exemplu), care, ajunși în citoplasma bacteriei, acționează asupra *represorului* și îl împiedică de a se combina cu *operatorul* încît acesta declanșează transcripția, începutul sintezei enzimei înscrise în gS (penicilinaza, în acest exemplu). Enzima sintetizată va executa procesul de metabolizare de care este capabilă, în celulă și în afara ei, pînă epuizează substratul asupra căruia acționează (penicilina)*. Epuizarea substratului ca și acumularea unui exces de enzimă, reprezintă cauza încetării sintezei, *feed-back*.

Exemplu: *Esch. coli*, bacterie capabilă să metabolizeze lactoza, posedă operonul „*Lac*", care are capacitatea de a induce sinteza secvențială a celor trei enzime necesare execuției acestui proces: β-galactozidpermeaza, β-galactozidaza și β-galactozidtransacetilaza. Prezența lactozei în mediul de multiplicare reprezintă efectorul (E) care, combinat cu represorul (R), induce transcripția genelor de structură și sinteză secvențială a enzimelor care desfac lactoza. Atît epuizarea lactozei din mediu, cît și saturarea în glucoză, sau excesul de enzimă-finală stopează sintetizarea acestora.

În concluzie, la nivelul ribozomilor sînt sintetizate toate enzimele necesare metabolismului care caracterizează fiziologia bacteriei. Majoritatea sînt localizate în formațiile membranoase ale celulei, membrană citoplasmatică și mezozomi. Sinteza tuturor celorlalte micro și macro-molecule celulare va fi rezultatul activității înlănțuite a enzimelor.

---

* O bacterie dotată cu capacitatea de a sintetiza penicilinază este rezistentă la penicilină.

3. MEMBRANA CITOPLASMATICĂ (m.c.p.) ȘI MEZOZOMII SAU CORPII MEMBRANOȘI (c.m.)

Structură. Citoplasma este învelită de o membrană fină (0,1—1 nm), elastică, lipsită de rezistența mecanică, de structură lipoproteică (40% lipide, 60% proteine) cu foarte mici cantități de carbohidrat: două straturi de molecule lipidice cu lanțurile hidrofobe față în față, cele hidrofile distal, sînt dublate cu molecule proteice hidrofile, realizînd pe secțiune aspectul tristratificat, structură și funcții similare membranelor de înveliș ale celulelor animale (disciplina *Biologie celulară*); mezozomii sînt invaginații ale m. c. p., au aceeași structură, reprezentînd mărirea considerabilă a suprafeței funcționale a m. c. p. Punerea în evidență a m. c. p. se face prin:

liza enzimatică a stratului bazal al peretelui cu lizozim, în mediu hipertonic (sucroza 20%) stabilizator și spălare în mediu hipertonic; la bacterii gram-pozitiv liza peretelui este completă și se obțin protoplaști (bacterii fără perete); prin liza ulterioară a acestora în mediu hipotonic (apă distilată), m. c. p. apar ca vezicule goale ce pot fi studiate chimic și la m. e.;

plasmoliză (suspensia bacteriilor în soluții hiperconcentrate determină pierderea osmotică a apei cu deshidratarea protoplastului care se retractă odată cu m. c. p., desprinzîndu-se de peretele celular); metoda permite atît vizualizarea m. c. p. cît și a peretelui bacteriei (fig. 8);

secțiuni ultrafine examinate la m. e. pun în evidență m. c. p. aderentă de perete (fig. 3).

Funcționalitatea. Aceste membrane semipermeabile, m. c. p. și c. m., sînt sediul majorității sistemelor enzimatice selective de transport pentru ioni minerali, zaharuri, aa etc., reprezentînd bariera osmotică a celulei, care reglează presiunea osmotică ridicată a citoplasmei (echivalentă a 10—20% sucroză, 20—25 atmosfere la bacterii gram-pozitiv, 4—5 atmosfere la bacterii gram-negativ) și schimburile care au loc între celula bacteriană și mediul extern: exclude substanțele pentru care nu au sistem de transport, eliberează exoenzime, absoarbe substanțe nutritive solubile sau solvite de exoenzime din mediul extern și elimină produse de catabolism. Corpii membranoși ar avea un rol special în eliminarea din citoplasmă a acestor produse. M. c. p. la bacterii nu este adaptată la transferul de molecule mari sau structuri particulate, din exterior în interior sau invers, cu excepția DNA (v. cap. X).

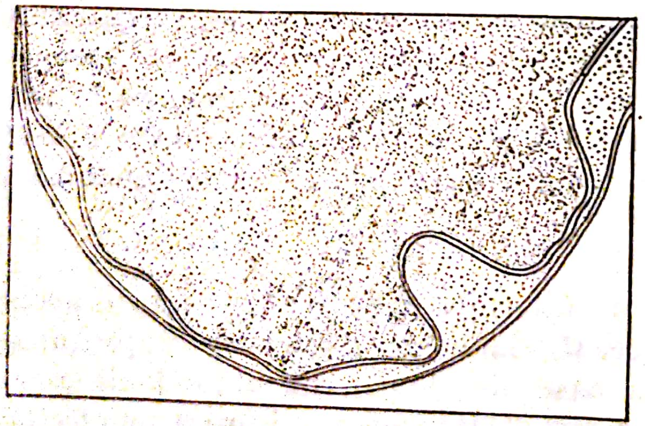


Fig. 8: Plasmoliză: micrografie electronică a unei secțiuni printr-o celulă *Escherichia coli*, în plasmoliză; se vede peretele celular și membrana citoplasmică. (*Kellemberger* și *Ryter*, 1958; din *Dubos* și *Hirsch*, 1965, p. 48).

Schimburile se realizează nu numai prin *procese catalizate enzimatic* ci și prin *procese de difuzare pasivă* în ambele sensuri (vezi plasmoliza și plasmoptiza). Aceste procese constituie nutriția.

M. c. p. ca și c. m. sînt totodată sedii ale *enzimelor respiratorii*, citocromoxidaze, dehidrogenaze, catalaze ale reacţiilor de oxido-reducere. Sînt sediul de sinteză al majorităţii precursorilor constituenţilor peretelui bacterian, dirijată de polimeraze.

Structura m. c. p. şi c. m. este ţinta acţiunii unor antibiotice (cap. IX).

4. PERETELE BACTERIAN

Existenţa celui de-al doilea înveliş la bacterii a fost demonstrată prin aceleaşi metode folosite pentru m. c. p. Pereţi bacterieni în stare pură pot fi obţinuţi după dezintegrare prin ultrasonare urmată de centrifugare diferenţială, sau prin liză enzimatică cu ribonuclează, dezoxiribonuclează şi tripsină, spălare şi separare prin centrifugare diferenţială.

Structură. Peretele este format dintr-un *strat bazal*, de care aderă m. c. p., similar ca structură la toate bacteriile, şi un strat superficial, foarte diferenţiat la cele trei categorii tinctoriale (gram-pozitive, gram-negative, acidoalcoolorezistente) şi pentru fiecare specie, tip, numit şi *stratul structurilor speciale*. Astfel, pe secţiuni fine, la m. e., apare tristratificat (fig. 3, 10, 11), de 15—80 nm grosime la gram-pozitive, de 10 nm la gram-negative.

(i) *Stratul bazal* este un heteropolimer glicopeptidic (numit şi mucopeptid, mucocomplex, peptidoglican sau mureină*), format din macromolecule lungi (filete) polizaharidice, paralele, legate între ele prin punţi polipeptidice realizînd o reţea cu ochiuri foarte regulate, model hexagonal (fig. 9 A), care încorsetează protoplastul asigurîndu-i rezistenţa mecanică :

— filetele polizaharidice sînt formate din două zaharuri aminate care alternează, acidul N-acetilmuranic şi N-acetilglucozamina (legătură care este ţinta acţiunii lizozimului) ;

— punţile polipeptidice sînt reprezentate de un tetrapeptid şi un pentapeptid : *tetrapeptidul* alcătuit din D şi L-aminoacizi (D-alanină, acid D-glutamic, L-alanină şi L-lizină la *S. aureus* ; acid diaminopimelic, la alte specii) este ataşat la acidul N-acetilmuranic al polizaharidelor ;

pentapeptidul (pentaglicină la *S. aureus*, conţine alanină şi treonină la alte specii) formează punţi între tetrapeptide de pe filete polizaharidice alăturate, din acelaşi plan sau suprapuse (fig. 9 B), (ţinta acţiunii penicilinei).

În perete există compuşi care nu au fost găsiţi în nici un alt tip de celulă în natură, acidul diaminopimelic şi N-acetilmuranic.

(ii) *Stratul structurilor speciale*. La bacteriile *gram-pozitive*, structurile speciale sînt reprezentate mai ales de polizaharizi, uneori şi proteine, lipidele fiind absente. Multe specii conţin acizi teichoici (polimeri de ribitolfosfat sau glicerolfosfat) ataşaţi la stratul bazal, structuri cărora li se atribuie, de asemenea, rol în determinarea rigidităţii peretelui ; la altele, sînt prezente mucopolizaharide compuse din zaharuri aminate şi monozaharuri simple etc.

La bacteriile *gram-negative*, structurile speciale sînt alcătuite din foarte variate complexe de lipopolizaharide (LPS) numite şi „endotoxine" şi lipoproteine (formînd un complex glucido-lipido-polipeptidic) (cap. XX şi XXVIII). Lipsesc acizii teichoici.

---

* *Murus* = zid, perete.

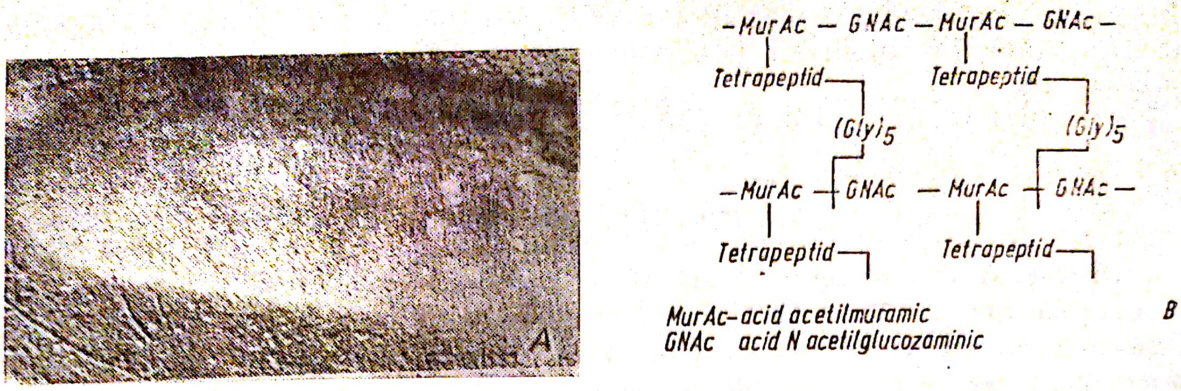

A
—MurAc — GNAc — MurAc — GNAc —
Tetrapeptid
Tetrapeptid
(Gly)5
(Gly)5
—MurAc — GNAc — MurAc — GNAc —
Tetrapeptid
Tetrapeptid
MurAc- acid acetilmuramic
GNAc acid N acetilglucozaminic
B

Fig. 9: A. Micrografie electronică a unei celule *Halobacterium halobium*, arătînd subunitățile regulate ale peretelui celular (×72 000). *Salton*, 1960 (din *R.J. Dubos* și *J.G. Hirsch* „Bacterial und Mycotic Infections of Man", J.B. Lippincott, Comp., 1965, p. 46).

B. Diagramă reprezentînd unitățile repetitive ale glicopeptidului de *S. aureus*. La alte specii se văd unele variații de structură. Tetrapeptidul și pentaglicina (Gly_5) leagă încrucișat lanțurile polizaharidice, care constau din reziduuri alternante de acid N-acetilmuranic (Mur Ac) și N-acetilglucozamină (GNAc). (Din *B.D. Davis* et al „Microbiology", 1970, p. 30).

La bacteriile *acidoalcoolorezistente*, aceste structuri superficiale sînt foarte bogate în complexe formate din acid micolic și ceruri (care explică și rezistența la decolorarea folosită în colorația Ziehl-Nielsen) și proteine cu gr. molec. mică (tuberculina).

Stratul structurilor speciale este mai bine reprezentat cantitativ la speciile gram-negative, în raport cu cel bazal, și invers la gram-pozitive. Văzut pe suprafață la m. e., la majoritatea speciilor apare alcătuit din subunități identice regulat distribuite, dînd aspectul unei rețele cu ochiuri regulate hexagonale (fig. 9 A); la unele gram-negative, suprafața apare mai neregulată, cu aspect de circumvoluții.

Funcționalitate. Spre deosebire de m. c. p., peretele bacterian nu are decît un rol foarte redus în fenomenele de permeabilitate, avînd o structură poroasă prin care trec liber molecule solvite cu gr-molec. 10 000 (1 nm ∅); nu i se cunoaște nici o funcție metabolică; deține însă foarte importante funcții în celulă.

Stratul bazal reprezintă suportul principal al calităților mecanice ale peretelui; el asigură:

— rezistența la presiune osmotică, prevenind umflarea protoplastului și ruperea m. c. p. în mediile naturale de existență a bacteriilor, în general hipotonice comparativ cu mediul intern al bacteriei; asigură

— rigiditatea peretelui și astfel forma caracteristică a speciilor;

— este substratul (ținta) acțiunii lizozimului, a enzimelor autolitice, a muralizinei fagului, al unor antibiotice, ca peniciline, care, toate, pot omorî bacteriile prin fenomene de plasmoptiză; acțiunea lor este mai importantă asupra bacteriilor gram-pozitive la care stratul superficial este mai slab reprezentat, stratul bazal fiind astfel mai accesibil.

De *stratul structurilor speciale* țin importante caractere de virulență și antigene de specificitate a speciilor; aici sînt prezenți receptori specifici pentru atașarea bacteriofagilor, structuri accesibile metodelor imunologice de evidențiere. De structura lor diferită depinde tinctorialitatea diferită a speciilor.

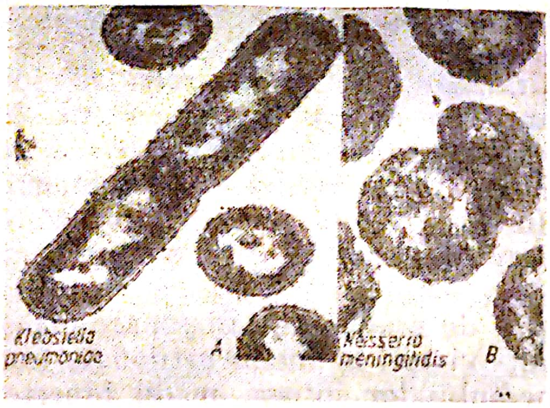


Fig. 10: Bacterii gram-negativ pe cale de diviziune prin strangulare, electronomicrografii :

A. *Klebsiella pneumoniae*, bacil; B. *Neisseria meningitidis*, coc (După *Research lab. Cita-Geigy*, Basle).

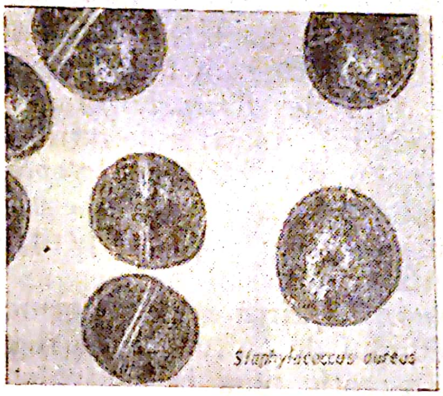


Fig. 11: Bacterie gram-pozitiv pe cale de diviziune prin perete despărțitor (diafragm) :

Staphylococcus aureus (Reprodus, *Research Lab. Ciba-Geigy*; microscopie electronică).

Peretele participă la diviziunea bacteriei.

Diviziunea. În timpul diviziunii, la *b. gram-pozitiv* separarea are loc prin formarea unui perete despărțitor de la periferie spre interior, ca un diafragm care se închide treptat, clivajul celor două celule avînd loc, cel mai adesea, după una-două sau mai multe generații (fig. 11), formînd lanțuri, grămezi. La *bacilii gram-negativi*, diviziunea are loc prin strangularea treptată a citoplasmei și separare imediată (fig. 10). Formarea pereților celulari despărțitori este însoțită de apariția în citoplasmă a unui corp membranos atașat de aceștia, ceea ce demonstrează participarea lor la sinteza pereților.

Bacterii cu perete alterat: protoplaști, sferoplaști („forme L”). Datorită rigidității asigurată de peptidoglican, peretele menține forma caracteristică bacteriei fiziologic activă, aflată în condiții optime de dezvoltare. Orice factor care alterează această structură sau inhibă sinteza ei duce fie la moarte, fie la apariția de bacterii morfologic modificate, forme de involuție: protoplaști și sferoplaști. Sinteză defectuoasă a peretelui are loc, fie ca urmare a unei variații genetice, fie ca variații fenotipice determinate prin carențe nutritive, prin intervenția unor substanțe cu rol litic, prin interferare metabolică :

(i) *Carențele nutritive* apar regulat în mediile de cultură prin epuizarea unor metaboliți, factori de creștere, traduse prin „îmbătrînirea” culturii, cu apariția formelor de involuție, foarte pleomorfe.

(ii) Mucocomplexul suferă *acțiunea litică a lizozimului*, enzimă prezentă în țesuturile și umorile animale, folosită și *in vitro* pentru prepararea experimentală a protoplaștilor prin liza peretelui.

(iii) Bacteriofagii posedă de asemenea o enzimă de tip lizozim, *muralizina*, capabilă să altereze peretele bacteriei.

În organism, bacterii cu perete alterat pot să apară sub influența lizozimului, a anticorpilor + complement și a terapiei cu unele antibiotice ca peniciline, cefalosporine, cicloserine, *capabile să interfereze sinteza peretelui*; astfel de bacterii cu pereți defectivi, fie că mor prin plasmoliză, fie că dau naștere la forme de involuție. Datorită stratului superficial mai penetrabil și al conținutului mare în mucocomplex, b. gram-pozitiv sînt mai sensibile, atît la acțiunea acestor antibiotice, cît și la lizozim, dînd mai frecvent bacterii cu perete alterat.

Aceste forme au fost descrise sub diferite denumiri: *forme „L"* (denumire dată de *Klieneberger-Nobel*, care le-a descris în Institutul *Lister* din Londra). Astăzi este reținut mai ales termenul cauzal, *bacterii cu perete alterat*, cu precizările: *protoplast*, pentru forma lipsită de perete, redusă la elementele structurale esențiale (nucleu, citoplasmă, membrană citoplasmatică) și *sferoplast*, pentru bacteriile cu perete defectuos, incomplet sintetizat, rezidual.

Supraviețuirea acestor forme depinde de gradul de tamponare osmotică a mediului de cultură; pot fi menținuți viabili în medii artificiale tamponate osmotic pînă la echivalentul mediului lor intern, medii hipertonice (cu conținut solvit crescut, 10—20% sucroză). În medii sub izotonia mediului lor intern, aceste forme se umflă prin imbibiție, m. c. p. se rupe și citoplasma se elimină, mor. *Protoplaștii sînt în general neviabili*, foarte greu adaptabili la dezvoltarea chiar în medii artificiale foarte bine tamponate. *Sferoplaștii sînt mai rezistenți*, repuși în medii de cultură optime, lipsite de factorul care a indus defecțiunea (lizozim, antibiotic), sînt ușor reversibili la bacteria parentală normală, cu perete. Reversibilitatea are loc ușor prin cultivare pe oul embrionat de găină. Testul cel mai bun care arată că a avut loc recuperarea peretelui este revenirea colorabilității prin colorația Gram, pentru bacteriile gram-pozitiv.

Marea sensibilitate a bacteriilor cu perete alterat la variațiile de presiune osmotică stă la baza deosebitului lor pleomorfism. Astfel, lipsa mucocomplexului la protoplaști determină apariția formelor sferoidale de dimensiuni diferite, granulare-globuloase-gigante, indiferent care este forma bacteriei din care provin.

Sferoplaștii, bacterii cu „schelet" defectiv, iau forme mai diferite: filamentoase (apar adesea în condiții de carență nutritivă prin neformarea pereților despărțitori între celulele-fiice), piriforme, aspecte de înmugurire etc.

Și alte proprietăți ale acestor forme decurg din sinteza defectuoasă a peretelui: virulență redusă, lipsă de sensibilitate la antibiotice cu acțiune de perete.

5. CAPSULA

Unele specii posedă un al treilea înveliș denumit capsulă; prezența sau absența ei constituie un important criteriu de identificare a speciilor. Capsula apare de diferite grosimi în raport cu specia bacteriană:

capsula obișnuită are 1—3 µm grosime, vizibilă la microscopul optic prin colorații speciale, sau ca halou necolorat;

material capsular amorf-vîscos, secretat în mediul de cultivare care capătă astfel o consistență gelatinoasă în care corpii bacterieni sînt înglobați; culturile sînt filante, mucoase;

microcapsule demonstrate prin analiză chimică, antigenică și la m.e. Sînt polimeri organici secretați, cu slabă solubilitate în apă și cu tendința de a se acumula în straturi laxe, confluente, în imediata vecinătate a peretelui, formînd capsula: polimeri polizaharidici (din zaharuri simple sau aminate), polipeptidici; componentele macromoleculare sînt incluse adesea într-un gel amorf (fig. 12).

Principala *funcție* a capsulei este protecția celulei față de fagocite: bacteriile capsulate sînt virulente (pneumococ, streptococ, bacteridie cărbunoasă, pneumobacil) prin proprietatea antifagocitară a capsulei; variantele necapsulate ale acelorași specii sînt ușor fagocitate, nevirulente.

În afară de existența variantelor genetice acapsulate, dezvoltarea capsulelor este dependentă și de mediul de cultivare: în organismul infectat, capsulele se dezvoltă bine; pe medii de cultură artificiale, dezvoltarea depinde de prezența anumitor precursori: concentrații de anumite zaharuri, ser sanguin. Astfel, capsula pneumococilor și a bacteridiei cărbunoase nu se dezvoltă pe medii simple, dar se dezvoltă în medii cu ser sanguin. Cînd în mediu este prezent un precursor direct al substratului chimic capsular, se formează capsule enorme (*Streptococcus salivarius* cultivat pe medii cu fructoză sintetizează mari cantități de levan).

Pierderea capsulei nu antrenează moartea bacteriei, dar coloniile din mucoide (*M*) sau netede (*S*)[*] devin rugoase (*R*)[**].

Antigenele capsulare sînt în același timp importante antigene de specificitate: structura lor este specifică speciei și/sau tipului taxonomic.

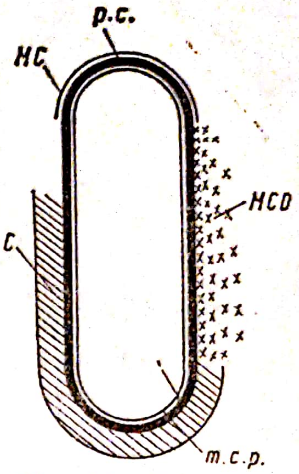


Fig. 12: Reprezentare diagramatică a relației între capsulă, stratul mucos și microcapsular cu peretele celular și membrana protoplasmului:

p.c. = perete celular; m.c.p. = membrana citoplasmatică; c. = capsulă; MC = microcapsulă; MCD = materie capsulară detașabilă (După *Salton*; din *Gunsalus*, 1960, p. 101).

6. CILII BACTERIENI

Unele specii posedă cili, filamente de multe ori mai lungi decît bacteria (3—13 μm) foarte subțiri (0,01—0,02 μm∅), regulat ondulante, flexibile. Se colorează numai prin metode speciale de mordantare și supracolorare, ca impregnări argentice; se văd la m.e. Cilii sînt organite de mișcare, tip înot; prezența lor este dedusă prin *mobilitatea bacteriilor* și *difuzibilitatea coloniilor* în geloză moale.

Pe secțiuni fine la m. e., apar ca structuri tubulare: fiecare cil alcătuit din subfibrile, la rîndul lor spiralate, uneori invelite într-o teacă; pe secțiune transversală, apare un gol central înconjurat de subunități identice, regulate, simetric așezate, în număr de 3 sau 5. Cilii sînt ancorați în m. c. p.; nu este încă bine stabilit sensul acestei structuri tubulare.

Cilii sînt prezenți în special la bacili și vibrioni, rareori la coci; diferă ca număr și distribuție pe suprafața celulei în raport cu specia:

peritrichi[***] (implantați pe toată suprafața bacteriei) caracteristici, multor bacterii enterice, cel mai adesea în număr mare, 20—30 de cili, și unor specii *Clostridium* (fig. 13);

---

[*] *Smooth*, S.
[**] *Rough*, R.
[***] *Trichos* = păr.

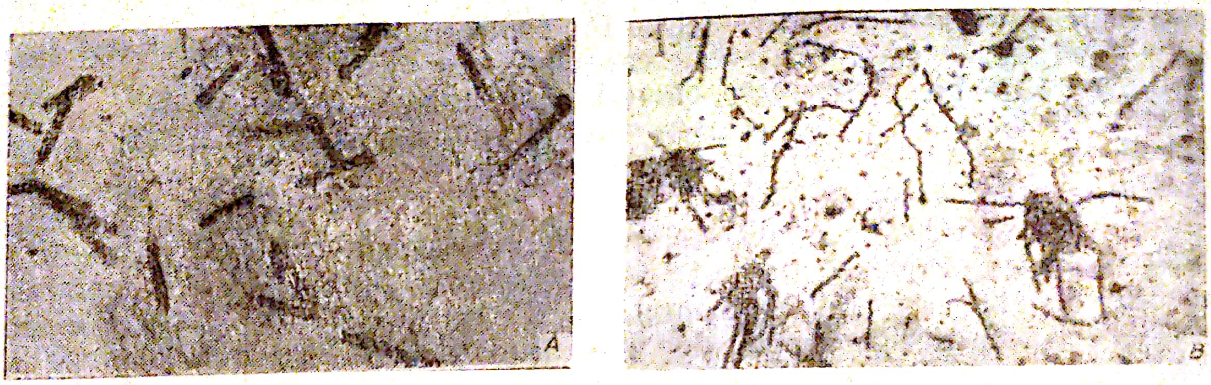


Fig. 13: Cili bacterieni peritrichi la *Tetanomorphus* No. 500 colecția Inst. Lister, Londra: (A) varianta L, imobilă, cili cu ondulații laxe; (B) varianta D, mobilă, cili cu spire foarte strînse (*P. Condrea, Eugenia Duca, Al. Petrovici*, 1953).

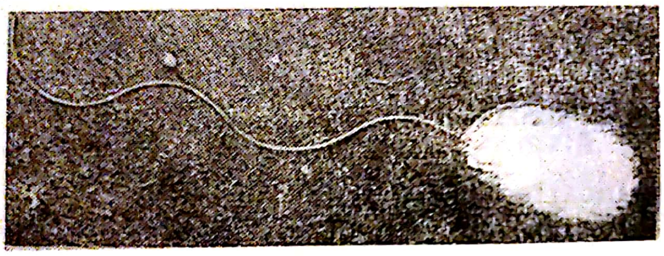


Fig. 14: *Pseudomonas aeruginosa*: cil polar unic. Micr. electr. × 38 000 (după *Wilkinson* și *Duguid*, 1960; *Cruickshank, Duguid*, 1973, p. 20).

cili polari, caracteristici pentru speciile familiei *Pseudomonadaceae* și genul *Vibrio*, pot fi:

monotrichi, un cil la un capăt (fig. 14);

amphitrichi, cili la ambele capete;

lophotrichi, smoc de cili la unul sau ambele capete;

cili subpolari, unul-doi cili implantați între cei doi poli, la enterococ (fig. 15).

În cadrul speciilor ciliate pot exista și variante neciliate. Cilii pot fi detașați de corpul bacteriei prin procedee mecanice, agitare, și purificați prin centrifugări diferențiale.

Cilii au structură proteică; proteina ciliară sau flagelina este asemănătoare miozinei, proteine contractile, reprezentînd aparatul de locomoție al majorității bacteriilor. Mobilitatea este factor de pătrundere și invadare

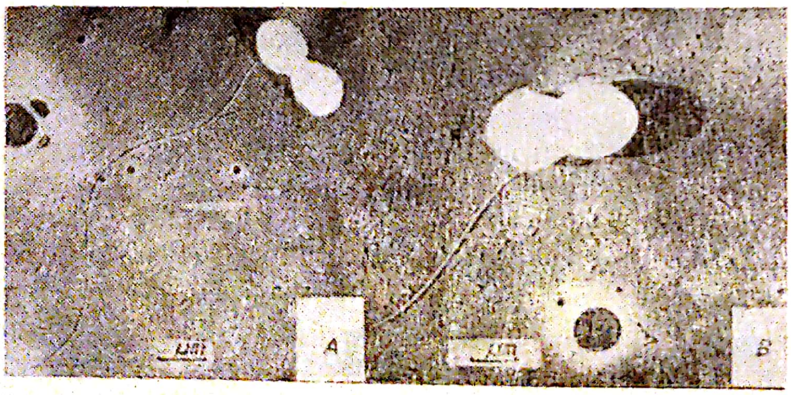


Fig. 15: Cili subpolari la *Enterococcus*, electronofotografie. (*M. Alexandrescu, E. Duca, A. Bîrzu, I. Huțu*, 1962).

în țesuturi și de dirijare spre zone favorabile dezvoltării. A fost observată existența de bacterii ciliate imobile.

Cilii dețin proprietăți antigenice importante pentru identificarea speciilor (Ag cu specificitate de specie, tip, variantă).

7. FIMBRII SAU PILI

Unele bacterii posedă și alți apendici filamentoși diferiți de cili, jumătate ca grosime, mult mai scurți, de lungimi variabile, drepți, mult mai numeroși (100—500 per bacterie), vizibili numai la m. e., distribuiți pe toată suprafața (fig. 16) ; au originea tot în m. c. p. Au structură proteică (rezistă la tripsină, pepsină, acizi, baze) ; antigenic diferă de proteina ciliară. Bacteriile piliate sînt mai ales gram-negative (speciile familiei *Enterobacteriaceae* inclusiv speciile capsulate, *Pseudomonas*, *Vibrio*, *Neisseria gonorrhœae*), dar și gram-pozitive (*Streptococcus*, *Corynebacterium*) ; la aceeași specie pot exista tulpini fimbriate și nefimbriate.

Pilii au rol în virulență asigurată de (a) rezistență mai mare la fagocitoză și (b) capacitate de aderență la anumite epitelii favorizînd colonizarea (fază obligatorie și premergătoare pentru exercitarea virulenței) ; (c) mediază aderența unor specii la hematii inducînd proprietatea de hemaglutinare ; (d) anumiți pili (sexuali) au rol esențial în inițierea conjugării (alipirea a două bacterii cu transfer de DNA).

8. SPORUL BACTERIAN

Speciile genurilor *Bacillus*, *Clostridium* și *Sporosarcina* dezvoltă forme de rezistență datorită cărora bacteriile pot supraviețui ani și zeci de ani în condiții nefavorabile de dezvoltare. Sporul nu se colorează prin colorațiile obișnuite, dar este vizibil ca o vacuolă necolorată în bacteria colorată, se colorează prin metode speciale. Diferă ca formă, dimensiuni și poziție de la specie la specie ; poate fi plasat la un capăt al bacteriei, *spor terminal*, la centru, *central*, sau într-o poziție intermediară, *subterminal* (fig. 17).

Ca structură, în jurul unui centru reprezentat de materialul nuclear se găsesc mai multe învelișuri : o *membrană dublă* (tunică sau perete sporal), un *cortex*, la rîndul său acoperit de *învelișurile sporale* (înveliș sporal intern,

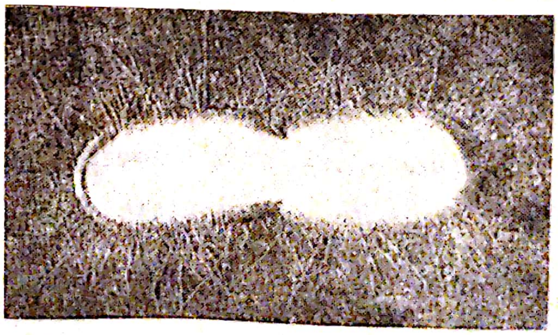


Fig. 16 : *Shigella flexneri* : bacterie fimbriată ; bacil gram-negativ pe cale de diviziune (prin strangulare) ;
Electronomicrografie × 24.000 reprodus din R. Cruickshank et al. 1973].

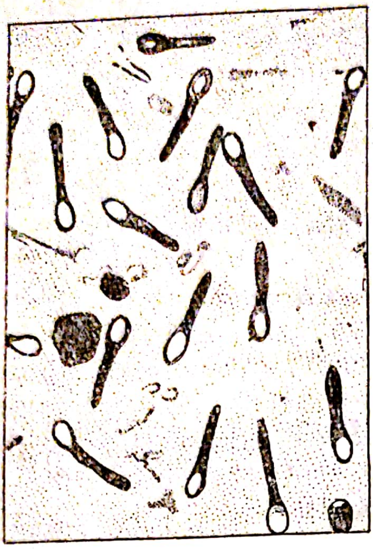


Fig. 17: Endospori bacterieni; *Clostridium*, în curs de sporulare, *Robinow*. (Din *Stanier*, 1966).

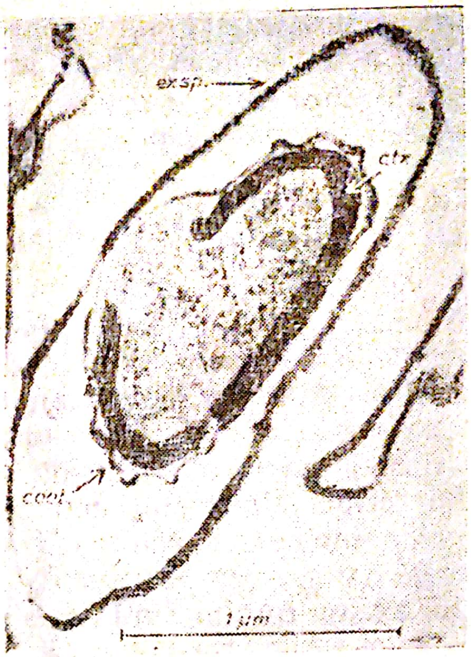


Fig. 18: Învelişurile sporale la *B. cereus*. secţiune longitudinală: (*ctx* = cortex; *coat* = învelişurile sporale; *exsp* = exosporul). (Electronomicrografie, *Gunsalus*, 1960).

lamelar şi înveliş sporal extern) şi un *exosporium* adesea separat de învelişul sporal extern, fie complet, fie numai la poli (fig. 18); ele asigură protecţia materialului genetic.

Nu se cunosc precis condiţiile care declanşează sporularea, dar se consideră în general că este vorba de condiţii defavorabile înmulţirii continue din lipsa unui sau unor metaboliţi necesari înmulţirii. *O bacterie formează un singur spor*, acesta se maturează în interiorul bacteriei integrînd un set complet de gene în jurul căruia citoplasma se condensează, se înconjură de învelişurile foarte rezistente, restul bacteriei se lizează şi sporul se eliberează. El deţine şi conservă întreaga informaţie genetică care caracteriza bacteria în momentul sporulării.

Sporul reprezintă formă bacteriană *de repaus* lipsită de metabolism şi forma *de rezistenţă*.

Rezistenţa sporului la factorii nocivi din mediul extern este asigurată atît de starea de deshidratare (apă 40—50%, faţă de 80—98% la formele vegetative) care anulează schimburile cu mediul extern şi scade sensibilitatea la căldură, cît şi de numeroasele sale învelişuri protectoare. Rezistă ani şi zeci de ani în condiţii de uscăciune şi adăpost de radiaţii; unii spori rezistă pînă la 8—20 ore la fierbere. Repus în condiţii favorabile de mediu, germinează dînd naştere unei forme vegetative identică cu aceea din care s-a format: *un spor dă naştere unei singure bacterii*.

Forma şi aşezarea bacteriilor

Alături de colorabilitate, forma şi aşezarea constituie un prim criteriu de diferenţiere a speciilor bacteriene. Examinate cu microscopul optic, pot fi apreciate forma exterioară a bacteriilor cu puţine detalii de structură — capsulă, spori —, aşezare şi dimensiuni.

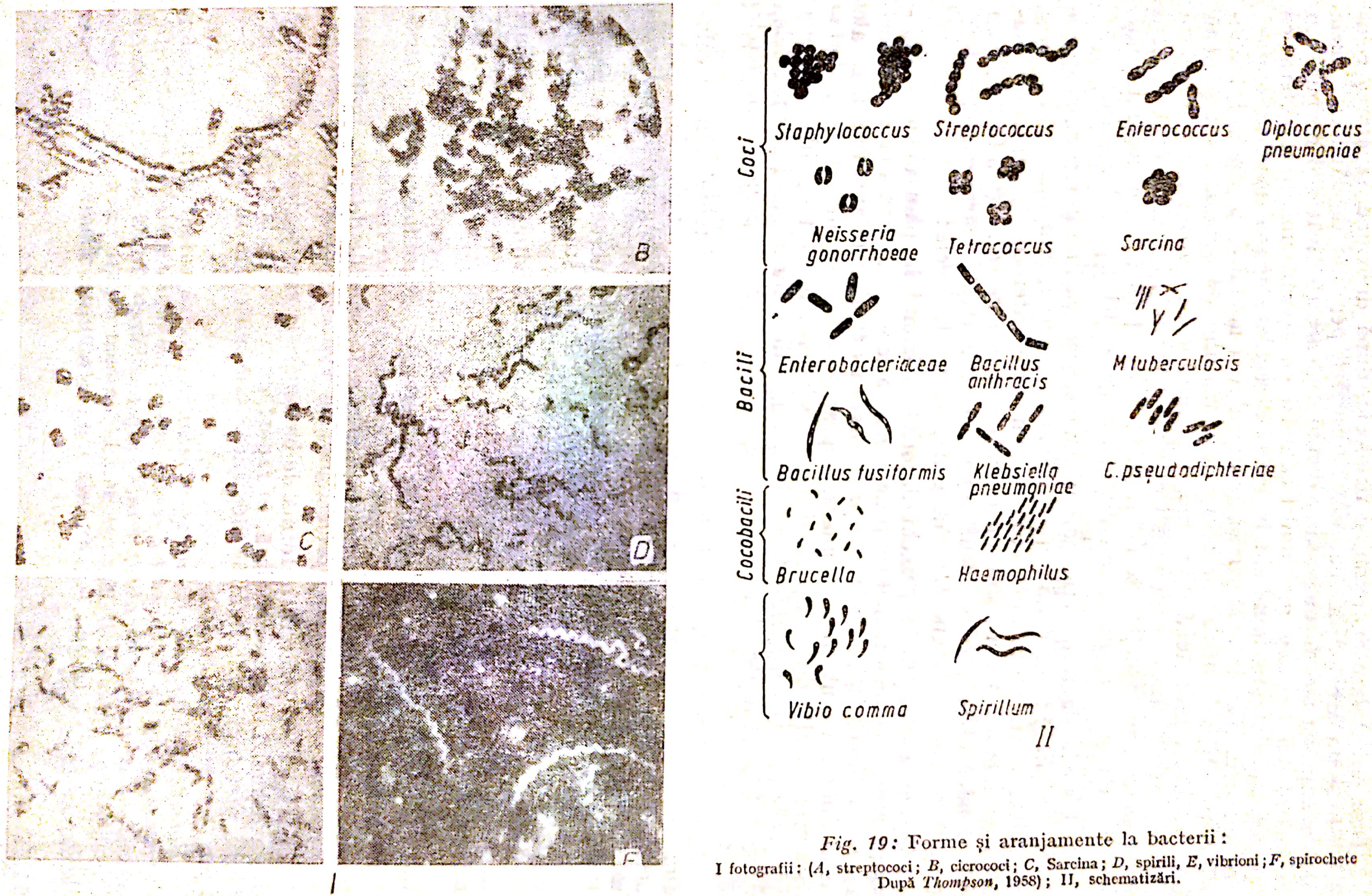

A
B
C
D
F
I
Coci
Staphylococcus
Streptococcus
Enterococcus
Diplococcus pneumoniae
Neisseria gonorrhoeae
Tetracoccus
Sarcina
Bacili
Enterobacteriaceae
Bacillus anthracis
M tuberculosis
Bacillus fusiformis
Klebsiella pneumoniae
C.pseudodiphteriae
Cocobacili
Brucella
Haemophilus
Vibio comma
Spirillum
II

Fig. 19: Forme și aranjamente la bacterii:

I fotografii: (*A*, streptococi; *B*, cicrococi; *C*, Sarcina; *D*, spirili, *E*, vibrioni; *F*, spirochete După *Thompson*, 1958); II, schematizări.

Deși unicelulare anatomic și fiziologic, după diviziune, separarea celulelor fiice nu are loc imediat după formarea pereților despărțitori; unele rămîn alipite timp de una sau mai multe generații alcătuind grupuri sau agregate, din doi sau mai mulți indivizi cu așezări uneori caracteristice speciei, genului sau familiei: în *grămezi* regulate sau neregulate, *lanțuri*, *palisade* etc. (fig. 19). Mărimea agregatului și modul de așezare al indivizilor în agregat este o consecință a numărului de generații cît persistă alipirea bacteriilor după diviziune, a planurilor de diviziune și a orientării lor în spațiu, aspecte caracteristice fiecărei specii. Descrierea unei bacterii în preparate microscopice se referă deci, atît la forma și dimensiunile individului, cît și la așezarea sau nu în agregate, ori aspectul acestuia.

a) **Coci.** Bacterii sferice sau aproape sferice, variind în raport cu specia de la 0,5 µm ∅ pînă la 1,5 µm ∅; cocii pot fi *sferici*, cum sînt stafilococii și majoritatea streptococilor; *ovalari*, cum este enterococul, *lanceolați* (flacără de lumînare) cum sînt pneumococii, *boabă de cafea* (reniformi), cum sînt gonococul și meningococul. Așezarea cocilor este foarte caracteristică, permițînd adesea diagnosticul de gen și chiar de specie:

Diplococi, așezați în perechi datorită diviziunii în plan unic și persistenței alipirii celulelor-fiice timp de o generație; este așezarea caracteristică a *cocilor lanceolați*, specia *Streptococcus pneumoniae* (diametrele mari ale celor doi coci sînt în continuare, suprapunîndu-se axului mare al diplococului); tot cîte doi se așază și *cocii reniformi* cum sînt speciile *Neisseria gonorrhoeae*, *N. meningitidis* (diametrele lungi ale celor doi coci sînt paralele, agregatul luînd aspectul a două boabe de cafea care se privesc prin fețele plane).

Lanțuri, datorită diviziunii în plan unic și a persistenței alipirii celulelor-fiice timp de mai multe generații, se formează lanțuri de 4—12 și mai mulți coci, așezare caracteristică speciilor din marele grup *Streptococcus* (*streptos* = lanț).

Grămezi neregulate, datorită diviziunii în planuri neregulate și a persistenței alipirii timp de mai multe generații, caracteristic genului *Staphylococcus* (*staphylos* = strugure).

Tetrade, patru coci așezați simetric datorită diviziunii în două planuri perpendiculare și persistenței alipirii timp de două generații, aspecte rar întîlnite.

Sarcina, pachete de cîte 8 coci, așezați simetric, în cuburi, datorită diviziunii în trei planuri perpendiculare, caracteristic genului *Sarcina* și *Sporosarcina*.

Coci neagregați, izolați, se pot întîlni la toate speciile de coci, indiferent de așezarea caracteristică speciei.

b) **Bacili.** Bacterii în formă de bastonașe la care se descrie o lungime și o grosime. Lungimea variază, în raport cu specia, de la 2—3 la 10 µm; forme mai lungi sînt numite filamente. Grosimea este în medie de 0,5—1 µm ∅.

Forma bacililor: drepți cu capete rotunjite, formă caracteristică speciilor din marea familie *Enterobacteriaceae; drepți cu capete retezate*, caracteristic speciilor din genul *Bacillus; bacili inegal calibrați* luînd aspect *granular* (bacil Koch); *măciucați* la unul sau la ambele capete, caracteristic bacilului difteric; *fuziformi*, cu ambele capete ascuțite, *Fusobacterium*.

Așezarea bacililor este adesea caracteristică unor specii sau genuri:

— *streptobacili*, așezați în lanț, caracteristic speciilor din genul *Bacillus (B. anthracis)*;

— *diplobacili*, așezare caracteristică genului *Klebsiella*;

— *palisade*, așezați paralel (ca degetele de la mînă), caracteristic pentru bacilii pseudodifterici, bacilul leprei;

— *litere de tipar* (X, Y, V, N), grămezi mici de cîte 2—4 bacili, formînd între ei unghiuri ascuțite ca bețe de chibrit împrăștiate pe o masă; așezare caracteristică bacilului difteric și b. Koch;

— marea majoritate a bacililor *nu formează însă agregate;* după fiecare diviziune celulele-fiice se deslipesc și apar dispersate în cîmpul microscopic, izolate; caracteristic marelui grup al bacililor gram-negativi.

c) **Cocobacili.** Forme intermediare între coci și bacili. Bacterii de talie mică (1—1,5 μm lungime/0,4—0,8 μm Ø); obișnuit nu formează agregate, uneori apar în diplo sau lanțuri scurte.

d) **Vibrioni.** Bastonașe încurbate în formă de virgulă, caracteristice vibrionului holeric, *Vibrio cholerae* numit și *Vibrio comma* (*comma* = virgulă, dimensiuni mici de 2—4 μm/0,3—0,5 μm, de obicei izolați, rareori cîte 2—3, cap la cap) și genului *Campylobacter* (*campylo* = curb).

e) **Spirili.** Bacterii filamentoase rigide, spiralate, lungi (5—10 μm) în raport cu grosimea (0,2—1,7 μm). Acest filament formează cîteva spire largi. Sînt bacterii ciliate, de obicei lofotrichi sau amphitrichi; (numeroase specii saprofite).

f) **Spirochete.** Spirochetele sînt bacterii filamentoase (10—20 μm) și foarte subțiri (0,1—0,3 μm), cu spire strînse și regulate; peretele celular, deși conține glicopeptid, are un grad de flexibilitate, spre deosebire de bacteriile tipice, rigide. Aparatul locomotor este reprezentat de un fascicol de fibrile contractile, fixate la cele două capete ale protoplastului; protoplastul filamentos este înfășurat în jurul fascicolului de fibrile, totul acoperit de peretele bacterian. Fibrilele au aceleași proprietăți contractile ca și cilii bacteriilor tipice, dar, prin poziția lor internă, ele asigură nu numai mobilitate, ci și flexibilitatea bacteriei. Din acest grup face parte spirocheta sifilisului (fig. 20).

g) **Actinomicete.** Au unele analogii morfologice cu micetele: în stadiul de culturi tinere, formează filamente lungi, cu ramificații perpendiculare, bacterii miceliene. Într-un stadiu mai avansat, filamentele se fragmentează în forme bacilare de lungimi diferite (fig. 21).

B. CLASA RICKETTSIAS

Speciile din clasa *Rickettsias* au aceeași structură cu cele din clasa *Bacteria*, inclusiv perete rigid; nu au cili și capsule; structura superficială a peretelui este de tip gram-negativ. Diferă însă funcțional de *Bacteria*, printr-un echipament enzimatic mult mai redus care le obligă la para-

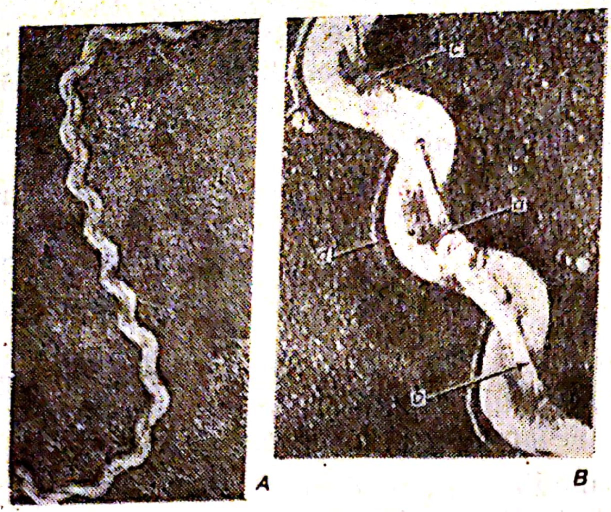


Fig. 20: Micrografii electronice: (A) Celulă intactă de *Leptospira*; filamentul axial apare fin şi strîns înfăşurat în jurul celulei helicoidale (*Stanier*, 1966, p. 126). (B) Segment de *Leptospira*; filamentul axial (a, b); spirala protoplasmatică (c); învelişul exterior (d). (După *Davis*, 1970).

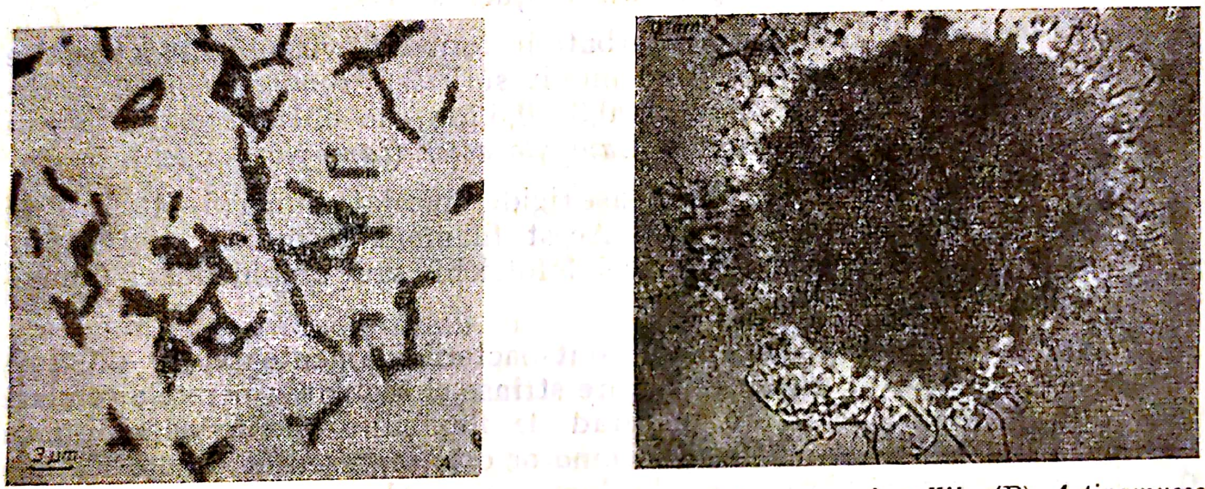


Fig. 21: Actinomyces (A) Frotiu din cultură de *Actinomyces israellii.* (B) *Actinomyces israellii*; microcolonie. (*Bergey's Manual*, 1974).

zitism în celule eucariote umane şi animale (nu cultivă pe medii artificiale); se înmulţesc prin fisiune binară. Au dimensiuni mici, 0,2—0,5 µm, şi forme cocoide-bacilare.

C. CLASA MOLLICUTES

Diferă de *Bacteria* prin lipsa peptidoglicanului (rezistente la penicilină), a unui perete rigid, fiind delimitate de un unic înveliş tristratificat, moale, avînd drept consecinţă o mai mare variaţie a dimensiunilor în raport cu faza de creştere şi gradul de echilibrare osmotică a mediului de cultură (organism): 0,10—0,25 µm, pînă la filamente de 5 µm. Unele specii alcătuind familia *Mycoplasmataceae* necesită pentru creştere *steroli*.

Sînt imobile, nesporulate. Se înmulţesc probabil prin fisiune binară. Sînt cele mai rudimentare bacterii capabile să se dezvolte pe medii de cultură artificiale.

BIBLIOGRAFIE

1. BIRZU A., HUŢU I., DUCA E., ALEXANDRESCU M.: Enterococi mobili. Consideraţiuni privind prezenţa şi importanţa depistării acestora în alimente. *Rev. Med. Chirurg., Iaşi*, 2, 357–360, 1962.
2. BROCHET J., MIRSEY A. E.: *The cell. Biochemistry, Physiology, Morphology.* V, V1, Acad. Press NY and London, 1960.
3. CONDREA P., DUCA E., PETROVICI AL.: Contribuţii la studiul asupra relaţiilor dintre morfologia bacteriană şi forma coloniilor. *Buletinul Sesiunii Ştiinţifice*, 4–6 iunie 1954, IMF Iaşi, 1955, 145–153.
4. CONDREA P., DUCA E., PETROVICI AL.: Îmbunătăţirea tehnicii Zettnov pentru colorarea cililor. *Inovaţii în domeniul sanitar*, nr. 3431, 1956; Inst. de Documentare tehnică, Bucureşti, nr. 4, 40–43.
5. DUCA E., ALEXANDRESCU M., BÎRZU AL., HUŢU I.: Enterococi mobili. Morfologia enterococului mobil la microscopul electronic. *Rev. Med. Chirurg.*, Iaşi, 2, 361–364, 1962.
6. GUNSALUS I. C., STANIER R. Y.: *The Bacteria*, vol. IV; The physiology of growth. Acad. Press, NY-London, 1963.
7. GUZE L. B.: *Microbial Protoplasts, Spheroplasts and L-forms*. Williams and Wilkins Comp. Baltimore, 1968.
8. POLLOCH M. R., RICHMOND M. H.: *Function and structure in microorganisms*. Cambridge Univ. Press, 1966.
9. RIEGER R., MICHAELIS A., GREEN M. M.: *A Glossary of Genetics and Cytogenetics* Springer-Verlag, Berlin-NY, 1968.
10. SAYER A.: *Rosalind Franklin and DNA*. Norton, NY, 1975 (recenzie: Science 14 nov., 1975).

III. METABOLISM BACTERIAN

Bacteriile se caracterizează printr-o foarte mare varietate a posibilităților de procurare a energiei de sinteză care diferențiază numeroasele categorii taxonomice.

În raport cu sursa de energie, se diferențiază bacteriile care folosesc energie luminoasă și trăiesc la lumină alcătuind diviziunea **Photobacteria** și bacteriile care își procură energia prin procese de oxido-reducere catalizate enzimatic și trăiesc la întuneric alcătuind diviziunea **Scotobacteria** (*skotos* = întuneric). În ambele categorii există specii strict *aerobe* (care trăiesc în prezența aerului folosind oxigen liber), strict *anaerobe* (care trăiesc în absența aerului), majoritatea sînt însă *facultativ anaerobe* (aerobe capabile să procure energie și prin procese de fermentație anaerobă) și unele sînt *aerotolerante* (anaerobe care suportă mici cantități de O mai ales în atmosferă cu 10% CO_2).

În raport cu sursele folosite ca material de sinteză, în ambele diviziuni se diferențiază bacterii *lithotrofe* (*lith* = piatră) sau autotrofe (în sensul de independente, libere) capabile să-și sintetizeze toți compușii organici din materie anorganică și *organotrofe* sau heterotrofe, dependente de prezența materiei organice.

Bacteriile patogene sînt chimiosintetizante organotrofe (numite și chimioorganotrofe sau chimioheterotrofe).

A. METABOLISM ENERGETIC

1. BACTERII FOTOSINTETIZANTE *(Photobacteria)*

Bacteriile fotosintetizante se dezvoltă la lumină utilizînd energia de radiație furnizată de aceasta; ele posedă pigmenți de fotosinteză care absorb energia luminoasă și o transformă în energie de legare chimică.

a) **Fotosintetizante aerobe** sînt bacteriile albastre-verzi, numite *Cyanobacteria* (*cyan* = albastru închis), care trăiesc în prezența oxigenului atmosferic și produc oxigen pornind de la CO_2 și H_2O (ca donor de electron), în prezența luminii: O_2 și CH_2O.

Multe sînt lithotrofe, *photolithotrofe*, utilizînd CO_2 ca unică sursă de N, surse anorganice de sulf și alte puține minerale.

b) **Fotosintetizante anaerobe**: bacterii roşii şi verzi, *se dezvoltă în absenţa oxigenului şi nu produc niciodată oxigen:* folosesc un donator anorganic de electroni, cel mai adesea H_2, cu condiţia ca H_2S să fie prezent ca sursă de sulf. Ca posibilităţi de sinteză există:

bacteriile verzi, Chlorobiaceae, strict *lithotrofe,* îşi procură carbon din CO_2, azot din N_2, sulf din H_2S, folosesc acetat; se caracterizează prin depozitarea de sulf în afara celulei;

sulfobacteriile roşii, Chromatiaceae, mixotrofe, sintetizează din substanţe anorganice dar pot fotoasimila şi puţine substanţe organice simple;

bacteriile roşii nesulfuroase, Rhodospirillaceae, organotrofe, unele specii necesită chiar factori de creştere, vitamine, substanţe pe care nu le pot sintetiza singure.

Bacteriile fotosintetizante reprezintă o componentă importantă a populaţiei microbiene a apelor şi solurilor celor mai diferite ca temperatură şi surse nutritive; nu includ specii patogene (tabel 2, 5).

2. BACTERII CHIMIOSINTETIZANTE *(Scotobacteria)*

Bacterii care trăiesc la întuneric procurînd energia prin procese de oxido-reducere catalizate enzimatic; fenomenul constă în transport de hidrogen de la un donator la un acceptor, cu degajare de energie. În raport cu ultimul acceptor de hidrogen în lanţul reacţiilor de oxido-reducere se diferenţiază (a) procese de oxido-reducere aerobă (respiraţia aerobă) şi (b) procese de oxido-reducere anaerobe (fermentaţiile şi, excepţional, respiraţia anaerobă).

a) **Respiraţia aerobă** (*metabolism oxidativ*). Bacteriile aerobe folosesc ca ultim acceptor de hidrogen, oxigenul molecular atmosferic, trăind în prezenţa aerului. Procesul este catalizat de un lanţ complet de transportori de electron cuplat cu sistemul de fosforilare oxidativă iniţiat de *citocrom-oxidaze*; ele posedă *catalază* care desface H_2O_2 (formată prin fixarea hidrogenului pe oxigen şi care este toxică) în $H_2O + O_2$; posedă uneori *peroxidaza* care catalizează fixarea hidrogenului pe H_2O_2 reducînd-o la H_2O.

(i) *Respiraţia aerobă la chimiolithotrofe* este cel mai frecvent mecanism de procurare a energiei; folosesc un donator anorganic de electron, fiind foarte specializate din acest punct de vedere:

— bacteriile nitrificante oxidează compuşi anorganici de azot *(Nitrosomonas, Nitrosospira, Nitrosococcus,* oxidează amoniu în nitrit, iar specii ca *Nitrobacter, Nitrospira, Nitrococcus* oxidează nitrit în nitrat*)*;

— sulfobacteriile oxidează compuşi de sulf, (*Thiothrix* oxidează H_2S acumulînd sulf în celulă, *Thiobacillus thioforus* oxidează thiosulfat în sulfat, *Thiobacillus thiooxidans* oxidează sulf convertindu-l în SO_4H_2);

— ferobacteriile oxidează fier feros (Fe^{++}) în fier feric (Fe^{+++}).

(ii) *Respiraţia aerobă la chimioorganotrofe:* energia este derivată din descompunerea oxidativă a substanţelor organice, carbohidraţi şi proteine; produsele de desfacere enzimatică realizate (substanţe oxidate) sînt convertite în material de structură, ceea ce este numit *asimilare oxidativă* (asimilarea carbonului):

asimilarea oxidativă poate fi completă, oxidarea sursei de carbon avînd loc pînă la formarea de CO_2 (forma cea mai înalt oxidată a carbonului) şi H_2O;

asimilarea oxidativă poate fi incompletă, cu formare de foarte variaţi compuşi de carbon parţial oxidaţi, care se acumulează ca principali produşi de metabolism :

acid acetic, prin oxidare aerobă incompletă a alcoolului (vin, cidru) ; produsă de bacterii numite acetice, *Acetobacter* ;

acid gluconic produs prin oxidarea incompletă a glucozei ;

oxidarea incompletă a zaharurilor poate produce şi *acid piruvic, acid alfa-cetoglutaric, acid fumaric, acid citric, acid oxalic*. Din această categorie fac parte speciile ordinului *Pseudomonadales*, unele specii *Spirillum* etc.

Printre produse de metabolism microbian aerob cu valoare economică se numără şi *antibioticele*.

Sursa de energie şi de carbon utilizată de astfel de bacterii este foarte diferită, *Cruickshank* dă ca exemplu specii din genul *Pseudomonas* care pot utiliza peste o sută de compuşi organici (zaharuri, acizi, alcooli etc.).

b) **Procese de oxido-reducere anaerobă.** Anaerobe sînt bacteriile care folosesc ca ultim acceptor de hidrogen o altă substanţă decît oxigen liber ; aceasta se explică prin faptul că în prezenţa aerului se formează H_2O_2, substanţă toxică pentru bacterii, pe care anaerobele lipsite de catalază nu o pot desface :

(i) *Respiraţia anaerobă la chimiolithotrofe*

Oxido-reducerea la lithotrofe anaerobe poate avea loc şi prin procesul rar întîlnit, numit respiraţie anaerobă; acest proces diferă de respiraţia aerobă doar prin ultimul acceptor de hidrogen care în acest caz este o substanţă anorganică (nitrit, sulfat etc.,) alta decît oxigenul:

Thiobacillus denitrificans oxidează sulfatul şi reduce nitrat (NO_3) eliberînd N_2 (bacterie denitrificantă) ;

Methanobacterium thermoautotrophicum reduce CO_2, folosind ca donor de electron H_2.

(ii) *Fermentaţiile, procese de oxidare anaerobă la chimioorganotrofe.* Majoritatea chimioorganotrofelor îşi procură energia prin procese de oxido-reducere numite fermentaţii*, în care, atît donatorul cît şi acceptorul de hidrogen este o substanţă organică (uneori într-o aceeaşi moleculă are loc şi oxidarea şi reducerea). În timpul proceselor de fermentare se acumulează numeroşi produşi de degradare parţială, care variază foarte mult în raport cu substratul şi calea metabolică specifică fiecărei specii :

Fermentaţia lactică. Acidul lactic este produsul cel mai frecvent al fermentaţiei la bacterii, fungi şi protozoare; procesul constă în transformarea hexozelor în acid lactic. Această fermentaţie determinată de *L. casei*, *Str. cremoris*, are loc printr-un proces identic *glicolizei* din celulele mamiferelor, sau prin calea metabolică *fosfogluconică* prin care, în afară de acid lactic, apar şi alţi metaboliţi intermediari ca etanol şi CO_2 (formare de gaz). Este caracteristică speciilor *Lactobacillus* şi *Streptococcus* care determină fermentarea acidă a produselor de lapte, iaurturi, brînzeturi; este o fermentare parţială a glucozei determinînd o acidifiere care prezervă alimentul de alte degradări microbiene atît timp cît sînt menţinute anaerob.

---

* *Buchner*, în 1897, a observat că fermentaţii pot avea loc în absenţa levurii vii, fiind determinate de un factor prezent în filtratul de cultură al levurii, *de o enzimă*; acesta a fost debutul biochimiei moderne.

Fermentaţia alcoolică (caracteristică levurilor şi unor micete) este rară la bacterii; produce alcool din hexoze.

Fermentaţia acidă mixtă este caracteristică bacteriilor enterice şi multor specii saprofite ale mediului extern. Se eliberează prin fermentarea glucozei *acid piruvic, acid lactic, acid formic, acid succinic* şi *ethanol.* Unele bacterii, datorită unei hidrogenliaze convertesc acidul formic în CO_2 şi H_2, producînd mult gaz. Aceasta este sursa de gaz a celor mai multe fermentaţii în medii de cultură, în colon, în gangrena gazoasă *(Escherichia, Clostridium).*

Alte fermentaţii (f) posibile sînt: *f. propionică* cu formare de acid propionic, *f. butilen-glicolică* cu formare de acetilmetilcarbinol şi butilen-glicol caracteristică speciei *Aerobacter,* diferenţiind-o de *Escherichia*; *f. butilic-butirică* produce mari cantităţi de acetonă (cu posibilităţi de exploatare industrială), alcool izopropilic, butanol etc.

Majoritatea speciilor în natură sînt *facultativ anaerobe,* dotate enzimatic atît cu posibilităţi de a obţine energie prin procese de oxidare aerobă cît şi prin fermentaţii, în raport de condiţii *(Enterobacteriaceae, Micrococcaceae).*

O altă categorie sînt *microaerofile,* bacterii anaerobe care suportă, şi uneori chiar utilizează, mici cantităţi de oxigen.

B. METABOLISM DE SINTEZĂ

Complexitatea compuşilor de structură microbieni nu diferă de aceia care alcătuiesc celulele organismelor superioare, *acizi nucleici, proteine, hidrocarbonate, lipide* etc., chiar în cazul bacteriilor *lithotrofe stricte* care sintetizează pornind de la substanţe exclusiv anorganice. Aceste structuri organice complexe sînt asamblate din unităţi, la rîndul lor caracteristice întregii lumi vii, inclusiv virusuri: aminoacizi, purine, pirimidine, mononucleotide, zaharuri simple.

Studiul căilor de sinteză a dus la elaborarea conceptului de *unitate a biochimici,* formulat de *Kluyver* (1926) pe baza asemănării reacţiilor biochimice în lumea vie. Acest concept este mereu confirmat prin desluşirea de noi căi de biosinteză, în care atît produse de metabolism intermediar, cît şi reacţiile producătoare sînt mereu identice cu acelea prezente în organismul animal. *Acest concept vine să întregească, alături de teoria celulară a lui Schwann, conceptul materialist privind unitatea structurală (anatomică şi chimică) şi funcţională a lumii vii.*

Particularităţile de structură citologică şi chimică, pe de altă parte, diferenţiază microorganismele de organismele superioare şi între ele, diferenţe care *reprezintă chei ale antibioterapiei.* De aceea, de o covîrşitoare importanţă practică este cunoaşterea tocmai a acestor particularităţi. Ceea ce diferenţiază şi mai mult bacteriile sînt modalităţile particulare prin care fiecare sintetizează structuri adesea identice sau similare; de unde, sutele şi miile de specii deja identificate, iar condiţiile de existenţă (care se schimbă mereu) impun noi selecţii pe baza variaţiilor genetice care apar.

Bacteriile organotrofe chimiosintetizante, mai ales, se caracterizează prin numeroase posibilităţi metabolice permiţîndu-le creşterea pe suporturile nutritive cele mai diferite. Aceasta se explică azi prin existenţa sistemului de inducţie-represie care reglează sinteza proteinelor-enzime cu care bacteria este genetic dotată, ceea ce, fenotipic, se traduce prin aspect de versatilitate metabolică în raport de condiţii nutritive.

1. BACTERII CHIMIOSINTETIZANTE LITHOTROFE

Chimiolithotrofe sau chimioautotrofe sînt bacterii libere, în sensul de independente de prezența materiei organice*, satisfăcîndu-și atît cerințele energetice, cît și de sinteză pe seama unor surse anorganice. Oxidînd o sursă anorganică pentru obținerea energiei, folosesc CO_2 ca unică sursă de carbon, combinații anorganice de azot ca sursă de azot, sulf sau combinații anorganice de sulf și puțini alți ioni metalici:

Bacteriile lithotrofe — fotolithotrofe și chimiolithotrofe — fac parte din foarte variata floră a solului și apelor. Ele reprezintă singurele organisme din natură cu această performanță metabolică, capabile să creeze materie organică vie din anorganică; sînt organismele care deschid ciclul elementelor chimice în natură; de la anorganic, la materie organică vie (cap. V, A). Aceste specii nu sînt patogene, ele nu găsesc în organismul animal condițiile necesare dezvoltării.

2. BACTERII CHIMIOSINTETIZANTE ORGANOTROFE

Chimioorganotrofe sau heterotrofe sînt bacterii dependente de materia organică; au o inepuizabilă varietate de posibilități metabolice de sinteză:

bacterii capabile să sintetizeze din substratul nutritiv toți compușii structurilor proprii, *metaboliți esențiali*, și

bacterii capabile să sintetizeze numai o parte din aceștia, pe alții trebuind să-i găsească în mediul de cultură sau în organism gata sintetizați, numiți *factori de creștere*.

Factorii de creștere sînt substanțe organice complexe, ca: purine, pirimidine, aminoacizi, vitamine etc.

Toate chimioorganotrofele folosesc ca sursă de carbon variate forme de carbon organic, cel mai frecvent aceeași substanță care folosește și ca sursă de energie (glucide cel mai adesea, alcooli, acizi grași); bioxidul de carbon le este de multe ori de asemenea indispensabil. Ele diferă în privința sursei de azot:

a) **Bacterii fixatoare de azot**, capabile să folosească pe lîngă alte surse și azot molecular atmosferic; trăiesc fie independente în sol și în apă (cum sînt speciile strict *aerobe* ale familiei *Azotobacteriaceae* și multe specii *anaerobe* din genul *Clostridium*, (*Cl. pasteurianum*), fie simbiotic ca speciile *Rhizobium* care fixează N în nodulii din rădăcinile leguminoaselor, (este așa-numita fixare simbiotică a azotului: *viață în asociere*, de la *sim* = împreună, *bios* = viață, cu beneficii bilaterale). Acest proces este foarte important deoarece în natură mari cantități de N sînt eliberate prin procese de denitrificare, azot ce nu poate fi reintegrat în ciclul materiei organice vii, nici de plante, nici de animale, numai de bacteriile fixatoare de N; ele convertesc N în NH_3, aminoacizi, proteină.

b) **Bacterii care folosesc N combinat anorganic**, săruri de amoniu, nitriți, pot converti azotul amoniacal (ca plantele) în aminoacizi. Sînt dotate cu un foarte complet echipament enzimatic pentru sinteza tuturor compușilor proprii; numeroase astfel de specii trăiesc în apă și sol; printre acestea și specii *Pseudomonas* (*Ps. aeruginosa*, bacterie patogenă).

---

* Ca și bacteriile fotolithotrofe.

c) **Bacterii care folosesc N organic:** proteinele nu pot fi asimilate direct de bacterii, nu pătrund prin învelişurile bacteriei; cultivarea este iniţiată numai de peptone sau de aminoacizi care trebuie să le fie furnizaţi ca *factori de creştere* în mediul de cultură (artificial), sau prezenţi în mediul natural. Odată intrate în proliferare, bacteriile încep sinteza şi eliberarea de exoenzime care hidrolizează proteinele în lanţuri mai scurte, în aminoacizi care pătrund în celulă, unde sînt resintetizaţi în forme specifice (proteine-enzime), structuri celulare: membrana citoplasmatică, perete, cili, fimbrii etc).

(i) Din această categorie fac parte bacteriile numite *saprofite, care în natură trăiesc pe depozitele de materie organică moartă* (*sapros* = putred, stricat; *sapiro* = a putrezi). Alături de fungi, ele descompun şi mineralizează depozitele de materie organică din mediul extern (cadavre animale şi vegetale, dejecte), *contribuie la descompunerea materiei organice în colon, la om şi animale* (aspecte utile); tot ele descompun resturile alimentare din carii, spaţii interdentare, interdigitale; sînt responsabile, alături de ciuperci de degradarea alimentelor, medicamentelor organice etc. (aspecte „mai puţin utile"). În această categorie se încadrează şi cele mai multe specii patogene.

(ii) Alte bacterii sînt dependente de anumiţi factori de creştere. Pentru unele, un singur aminoacid este suficient pentru iniţierea culturii, acesta fiind cel mai adesea *triptofanul* (uneori acelaşi aminoacid este şi sursa de N şi sursa de C).

(iii) Altele necesită un număr mare de factori prezenţi numai în lichide organice native, ca ser sanguin, sînge, acestea trebuind adăugate în mediu. De exemplu, *Haemophilus influenzae* necesită doi factori, hemina sau factorul X* şi coenzima I sau factorul V**, prezenţi în sîngele proaspăt.

În condiţii naturale, aceste specii nu se dezvoltă în mediul extern ci numai pe mucoase în directă intimitate cu celulele vii, unde astfel de factori de creştere sînt continuu eliberaţi de celule. Aceste bacterii sînt numite *comensale* (se nutresc pe seama gazdei vii).

Cu cît o specie cere un număr mai mare de factori de creştere, cu atît cultivarea pe medii artificiale este mai anevoioasă. Această dependenţă traduce gradul de dotare enzimatică a speciei; cu cît necesită mai mulţi factori de creştere, cu atît echipamentul enzimatic este mai redus şi invers.

(iv) Bacteriile *parazite* se dezvoltă numai în ţesuturi, fiind incapabile să se dezvolte pe mucoase; *Treponema pallidum*, *Mycobacterium leprae*; sînt totdeauna patogene.

(v) O ultimă categorie sînt bacteriile *parazite obligator intracelular* lipsite de echipament enzimatic de sinteză şi, ca urmare, folosesc constituenţi gata sintetizaţi de celula gazdă parazitată; unele posedă citocromi, reacţii aerobe şi generează adenozin-trifosfat (*Rickettsiales*); altele nu posedă nici mecanism de generare a energiei (*Chlamydiales*). Toate sînt patogene (tabel 5).

Orice interpunere a unei substanţe străine, capabilă, de exemplu, să pătrundă în celulă şi să se combine, sau să se substituie unui metabolit oarecare sau

---

* Complex de fier feric şi protoporfirina IX.

** Difosfopiridin nucleotid (DPN).

Tabelul 5

Clasificarea bacteriilor în raport de tipuri metabolice majore

Bacterii	fotosintetizante	lithotrofe	aerobe :	*Cyanobacteria* (majoritatea speciilor albastre-verzi)
			anaerobe :	*Chlorobiaceae* (sulfobacterii verzi)
		mixotrofe :	anaerobe :	*Chromatiaceae* (sulfobacterii roșii)
		organotrofe	aerobe :	*Cyanobacteria* (puține specii, albastre-verzi)
			anaerobe :	*Rhodospirillaceae* (bacterii roșii nesulfuroase)
	chimiosintetizante	lithotrofe	aerobe:	bacterii nitrificante sulfobacterii ferobacterii hidrogenbacterii
			anaerobe:	*Thiobacillus denitrificans* *Methanobacterium* etc
		mixotrofe	aerobe :	*Beggiatoa*
			anaerobe :	*Methanobacteriaceae* etc.
		organotrofe	aerobe:	*Pseudomonadaceae* *Mycobacterium* *Bacillus* *Spirillaceae* (majoritatea) *Leptospira* etc.
			facultativ anaerobe :	*Enterobacteriaceae* *Vibrionaceae* *Micrococcaceae* *Streptococcaceae* *Corynebacterium* etc.
			anaerobe:	*Bacteroidaceae* *Veillonellaceae* *Peptococcaceae* *Clostridium* *Treponema* *Borrelia* etc.

unei enzime, va inhiba creșterea microbului prin împiedicarea sintezelor următoare. În acest mod, prin interferarea metabolismului, se explică acțiunea de inhibare a creșterii bacteriilor prin substanțe antibiotice și chimioterapice.

★

În *încheiere*, în acest capitol se sugerează doar complexitatea fenomenelor biochimice în lumea microorganismelor cu inepuizabilele lor posibi-

Tabelul 6

Terminologia uzuală **reflectînd comportamentul metabolic major (prin relația de independență sau dependență a bacteriilor față de materia organică nevie, de organismul și de celula vie,** *habitat natural)*

Bacterii	*lithotrofe* sau *libere:*	trăiesc în mediul extern, independent de existența materiei organice.
	organotrofe, dependente de existența materiei organice	*saprobacterii* *, *trăiesc în mediul extern*, dependente de materia organică moartă; puține specii se pot adapta la comensalism și chiar parazitism devenind patogene;
		comensale, *trăiesc pe organism viu*, pe mucoase și tegumente, dependente de factori de creștere exsudați de celula vie; multe bacterii se pot adapta la parazitism devenind patogene;
		parazite **, *trăiesc în organismul viu*, în umori sau țesuturi, chiar facultativ intracelular, dependente de factori de creștere prezenți în umori sau țesuturi pe care le alterează = patogene;
		parazite obligator intracelular, trăiesc în celula vie pe care o alterează (ca virusurile și unele protozoare) patogene.

* Deoarece sistematicienii au ajuns la concluzia că bacteriile reprezintă structural și fiziologic un regn independent de cel vegetal, termenul *saprofite* aplicat acestor bacterii devine neadecvat (*phyton* = plantă); este indicată înlocuirea cu termenul *saprobacterii*.

** Unele protozoare intestinale, deși nu pătrund în țesuturi, sînt numite parazite pentru că spoliază gazda de materie nutritivă care îi este necesară, fiind patogene.

lități de a modifica și de a sintetiza structurile chimice organice și anorganice cele mai diferite; majoritatea combinațiilor organice și anorganice și chiar elemente chimice pot fi obținute prin catabolism sau anabolism microbian.

Se sugerează astfel tinerilor că studiul fiziologiei microorganismelor în afara satisfacerii setei de cunoaștere, deschide orizonturi noi în satisfacerea nevoilor practice. Cunoaștere, în acest caz, înseamnă posibilități de *dirijare a biosintezei*, de folosire a acestor *complexe industriale în miniatură* în realizarea de procese de interes industrial și a perfectării acelora deja aplicate.

Referindu-ne numai la domeniul medical, studiul fiziologiei microbiene înseamnă : noi și mai bune antibiotice, mai multe vitamine, enzime (enzime microbiene de activare a digestiei, active în sistemul de coagulare a sîngelui, enzime ca agenți antiinflamatori, fibrinolitici etc.), corticosteroizi, efedrină, alcooli, acizi și, mai ales, surse potențiale de aminoacizi, de alimente.

Pe de altă parte, descifrarea cît mai profundă a particularităților de structură și a proceselor determinate de microbi patogeni este singura cale real științifică de abordare, în măsură să amelioreze mereu metodologia de combatere și de terapie a infecției (tabel 6).

BIBLIOGRAFIE

1. BURROWS W.: *Textbook of Microbiology*. 18-th Ed., W. B. Saunders Company, Philadelphia—London, 1964, cap. 5.
2. BRACHET J., MIRSKY A. E.: *The cell. Biochemistry, Physiology, Morphology*. IV, Academic Press, NY—London, 1960.

3. CHIN-TARNG LIN, CHANG J. P.: Electron microscopy of albumin synthesis. *Science 190*, 465—467, 1975.
4. CRUICKSHANK R.: *Medical Microbiology.* Livingstone. Ed., Edinburgh—London, 1965, cap. 3.
5. DAVID H.: Die zelle als Kybernetisches System. *Das Deutsche Gesundheitswesen, 20,* 2, 53—62, 1965.
6. DUBOS R. J., HIRSCH J. G.: *Bacterial and Mycotic infection of man.* 4-th Ed. Pitman Medical Publishing Co L. T. D., 1965, cap. 5.
7. DUMAS J.: *Bactériologie médicale.* Collection médico-chirurgicale à révision annuelle. Ed. Méd. Flammarion, Paris, cap. V—VI.
8. FIRKET H.: *La cellule vivante.* Presses Universitaires de France, Paris, 1972.
9. GUNSALUS I. C., STANIER R. Y.: *The bacteria.* Vol. III: *Biosyntesis,* Acad. Press, NY—London, 1962.
10. KOLATA G. B.: Protein structure: Systematic alteration of amino-acid sequences. *Science, 191,* 4225, p. 373, 1976.
11. POLLOK M. R., RICHMOND M. H.: *Function and structure in microorganisms. Metabolism,* Cambridge University Press, 1966.

IV. CULTIVAREA BACTERIILOR

Microorganismele pot fi cultivate pe gazde vii și pe medii artificiale.

A. CULTIVAREA PE GAZDE VII

Cultivarea pe gazde vii constă în inocularea*, introducerea microbului la animal, embrion de găină, sau culturi de celule, unde se înmulțește; în cazuri speciale, de cercetare, este permisă și inocularea pe voluntari. Virusurile, rickettsiile și chlamidiile cultivă numai pe gazde vii.

Cultivarea pe animal este folosită pentru microorganismele capabile să determine o infecție (aparentă sau inaparentă); animalul care face infecția este numit receptiv. Animale de laborator cu spectru larg de receptivitate sînt șoarecele, cobaiul, hamsterul, iepurele, șobolanul, maimuța. Cu cît microbul este mai puțin patogen, cu atît animalul trebuie să fie mai tînăr, chiar nou născut, cu mecanisme imature de apărare antiinfecțioasă.

Embrionul de găină în plină dezvoltare, organism cu mijloace de apărare de tip embrionar, nedezvoltate, este foarte receptiv la infecții.

Culturile de celule animale, realizate *in vitro* (în eprubetă), lipsite de mecanisme proprii de apărare, sînt gazde vii pe care cultivă și m. nepatogene.

Inocularea la gazde vii reprezintă singura posibilitate de cultivare pentru toate virusurile, protozoarele parazite obligator intracelular, pentru unele bacterii obligator parazite ca bacilul leprei, spirocheta sifilisului, pentru bacteriile parazite obligator intracelular *(Rickettsiales* și *Chlamydiales).*

B. CULTIVAREA PE MEDII ARTIFICIALE

Majoritatea bacteriilor, micetele și unele protozoare cultivă și pe medii artificiale.

1. MEDIUL DE CULTURĂ

Reprezintă suportul pe care sînt însămînțate bacteriile pe/sau în care are loc cultivarea: *procesul de creștere la bacterii implică în mod necesar înmulțire. Cultura* este rezultatul înmulțirii și este reprezentată de totalitatea bacteriilor crescute într-un vas cu mediu, lichid sau solid. Mediul de cultură furnizează majoritatea surselor chimice necesare metabolismului energetic şi de sinteză, o parte din acestea fiind furnizate de aer (oxigen, CO_2).

---

* De la *inoculare* = a altoi, a implanta o sămînță; *inoculum* = cantitatea mică de produs care conține m. vii (produs patologic, cultură) și urmează să fie inoculată la gazdă vie, sau însămînțată pe un mediu artificial.

a) **Sursele nutritive** pot fi reprezentate de (i) substanţe chimic pure, în soluţie mixtă în apă, reprezentînd *medii de cultură sintetice*, cu compoziţie determinată, foarte necesare pentru studii de metabolism, stabilirea cerinţelor nutritive şi a posibilităţilor enzimatice a speciilor; (ii) folosite în practică sînt însă *mediile preparate pe bază de extracte organice complexe*; sînt ieftine, avantajoase scopurilor practice, permit creşterea a numeroase specii, fiind astfel convenabile pentru izolare şi diagnostic şi pentru industrie.

Diferite extracte organice apoase sînt folosite ca mediu de bază: de carne (muşchi, inimă, creier etc.) destinate mai ales pentru cultivarea bacteriilor; de vegetale (soia, malţ, porumb, mazăre etc.) utilizate în special pentru fungi; de levură (drojdie de bere) în general foarte valoroase. Fiecare din aceste extracte conţine surse pentru majoritatea metaboliţilor esenţiali şi mulţi factori de creştere; surse de C şi N, aminoacizi, baze azotate, vitamine, numeroase săruri minerale, surse de ioni de potasiu, magneziu, calciu (cu rol de catalizatori enzimatici), fosfor, sulf, fier, (indispensabili metabolismului), ca şi numeroase alte oligoelemente; ele conţin apă, produsul cantitativ cel mai important pentru metabolism.

Conţinutul în surse nutritive este foarte variabil, atît cantitativ cît şi calitativ, pentru acelaşi extract; variază cu calitatea produsului utilizat* şi cu metoda de extracţie: hidroliză la rece, la cald (la diferite temperaturi), sterilă sau nesterilă, durate diferite de extracţie etc. Cel mai folosit în bacteriologie este extractul de carne (muşchi).

Mărirea posibilităţilor de izolare, în sensul lărgirii spectrului de specii cultivabile, se realizează prin adaus de alte extracte, de peptone**, hidrocarbonate***, factori de creştere care pot fi adăugaţi, fie purificaţi, fie ca produse complexe native: ser, sînge, hematii, gălbenuş de ou etc.

Totuşi, nici un mediu nu corespunde încă din punct de vedere nutritiv cerinţelor tuturor bacteriilor, ceea ce ar fi ideal. De aceea, pentru izolarea bacteriilor şi fungilor patogeni în scop de diagnostic, de exemplu, este necesar un set mai larg de medii de izolare.

Un alt exemplu: pentru controlul sterilităţii medicamentelor injectabile (care nu suportă o metodă eficientă de sterilizare finală), este necesar un set de medii cu spectru şi mai larg de posibilităţi de izolare, deoarece orice categorie metabolică (inclusiv fotosintetizante şi lithotrofe) poate contamina unele produse şi, eventual, se poate înmulţi, degradîndu-l.

---

* Muşchi de bună calitate, de mînzat, slab, fără aponevroze şi grăsime va da un extract de carne de calitate nutritivă superioară, în raport cu o carne de animal bătrîn, cu mult ţesut conjunctiv, grasă etc.

** Nume generic al unor produse comerciale, uscate, obţinute prin digestie enzimatică (peptică, triptică, papainică) sau prin hidroliză acidă din proteine animale (carne, caseină, fibrină etc.), vegetale (soia etc.), levuri (drojdie de bere, mai ales) şi care conţin diferite (calitativ şi cantitativ) forme de degradare a proteinelor: proteoze, peptone, polipeptide, aminoacizi.

*** Nu există probabil compus organic natural care să nu poată servi ca sursă de C pentru unele specii.

b) **Condiţii de creştere.** Mediul de cultură trebuie să asigure şi anumite condiţii indispensabile creşterii:

Presiunea osmotică favorabilă pentru majoritatea speciilor saprofite, comensale şi parazite, corespunde aceleia a mediului intern al organismului uman şi este asigurată în mediu prin adaos de clorură de sodiu.

Concentraţia de ioni de hidrogen favorabilă pentru majoritatea patogenilor se plasează între valori strîns în jurul neutralităţii, *p*H 6,5—7,5, cu limite între 6,0—8,2. Există şi excepţii, *Alcaligenes faecalis*, *Vibrio cholerae*, care se dezvoltă pînă la *p*H 8,0—9,6 (aspect cu importanţă practică în izolarea vibrionului holeric din materii fecale şi ape, în scop de diagnostic). Unele specii *(Lactobacillus)* rezidente ale mucoaselor şi tegumentelor au ca *p*H optim valori între 5,0—5,8; ca urmare, deşi prezente în număr foarte mare pe învelişuri, ele nu invadează mediile însămînţate pentru izolarea patogenilor. În natură există specii care suportă valori foarte diferite, de la *p*H 1,0—10,0 *(Thiobacillus thiooxidans, Acetobacter)* şi specii care pot cultiva la *p*H 11,0 *(Rhizobium)* şi chiar la *p*H 13,0.

Dezvoltatea bacteriilor într-un mediu poate modifica concentraţia ionilor de hidrogen în ambele sensuri, acidifiere sau alcalinizare, ceea ce duce la *autolimitarea creşterii*. Pentru a evita aceste modificări, în mediile de cultură, pe lîngă corectarea *p*H-ului, se adaugă şi *substanţe tampon*, fosfaţi de exemplu.

Sterilitatea este o condiţie esenţială a oricărui mediu de cultură; ea asigură (i) stabilitatea chimică[*] a mediului şi (ii) reprezintă condiţia obţinerii culturilor pure care stau la baza cercetării şi practicii microbiologice.

Condiţii de incubare; cultivarea este dependentă şi de condiţiile de incubare a mediilor de cultură după însămînţare:

— asigurarea tensiunii optime de oxigen pentru bacteriile aerobe, microaerofile, facultativ anaerobe[**] (prin folosirea dopului de vată care asigură menţinerea sterilităţii, dar permite şi o bună aerare);

— pentru iniţierea creşterii, unele bacterii necesită concentraţii de CO_2 mai mari decît cele prezente în aer, 5—10%[***];

— eliminarea oxigenului pentru anaerobe, condiţie asigurată prin diferite metode fizice (fierbere, aspiraţie şi dop etanş, înlocuire cu gaze inerte, H, N, CO_2), prin reducere chimică (substanţe adăugate chiar în mediu sau în vasul de incubare etc.);

— umezeală 70—80% (asigurată prin plasare de vase cu apă pe raftul de jos al termostatului, schimbate de cîte ori s-a terminat apa);

— întuneric, pentru toate chimiotrofele;

— temperatura optimă, 37°C, în medie.

c) **Clasificarea bacteriilor în raport de temperatura de dezvoltare.** O bacterie poate cultiva între anumite limite de temp., o maximă şi o minimă, avînd temp. optime, la care ritmul de diviziune este cel mai rapid: 15—30 min., în medie. Cu cît temp. se apropie de minimă, cu atît metabolismul încetinește și durata generațiilor crește progresiv (6 ore) pînă ce înmulțirea încetează dar bacteriile nu mor (viață latentă). Cu cît temp. se apropie de limita maximă, apar tot mai importante modificări metabolice. În raport cu aceste limite, bacteriile se diferențiază în:

---

[*] Important din acest punct de vedere este şi păstrarea la întuneric.

[**] Bacteriile facultativ anaerobe obţin energie prin procese de fermentaţie şi cînd trăiesc în aer.

[***] Obţinerea concentraţiei 5—10% CO_2: vas de sticlă cu gura largă (> 12 cm Ø) în care se introduce o cupă cu $NaHCO_3$ şi se picură o soluţie de HCl 1%; se aşază cutiile Petri suprapuse, şi, deasupra, un suport cu o lumînare aprinsă (care nu fumegă). Borcanul este închis *etanş* cu capac obişnuit (din metal, bine adaptat ca dimensiune, buza borcanului intră în şanţul circular al capacului), prin intermediul unui strat de vaselină sterilă depus în şanţul capacului (sau parafină solidă sterilă, topită).

mezofile, cu optimum de dezvoltare la temp. organismului, 37–40°C; din această categorie fac parte toate bacteriile parazite, comensale și multe saprofite;

psichrofile (*psikhros* = frig) sau *criofile* (*crios* = frig) cu dezvoltare optimă sub 20°C; minima poate fi 0°C și chiar – 7°–10°C (în medii care nu îngheață); din această categorie fac parte specii din apă *(Pseudomonas)*, bacterii pigmentate: flora din regiunile polare, flora de contaminare a frigiderelor;

termofile, bacterii cu *optimum* de dezvoltare la temperaturi de coagulare a substanțelor proteice, peste 50°C (60–65° și chiar 70°C). Temperatura minimă de dezvoltare a acestora este în jur de 20–40°C, iar maxima pentru unele specii din izvoarele termale atinge 75° și chiar 98°C (specii care aparțin genurilor *Bacillus*, *Bacterium* și *Streptotrix*). Se găsesc din abundență în sol, au rol în fermentarea dejectelor; *alături de sporulate, sînt bacteriile care alterează alimentele și medicamentele insuficient prelucrate termic.*

Cunoașterea existenței acestor bacterii *crio-* și *termofile* este foarte importantă pentru înțelegerea a numeroase aspecte de igienă a alimentelor, medicamentelor, cu multe consecințe medicale (intoxicații etc.).

2. SCOPUL CULTIVĂRII

Metodologia de cultivare variază și cu scopul.

(i). *În scopuri de producție* semiindustrială (vaccinuri) sau industrială (antibiotice), fiind necesare mari cantități de corpi microbieni sau produse de metabolism (antibiotic, toxină etc.), se folosesc medii și metode cu randament mare pentru specia (tulpina) producătoare. Valoroase în acest scop sînt mediile lichide folosite fie în cantitate finită în *vas închis* (care permite cultivarea pînă la autolimitare), fie în vase speciale, *chemostate* (permit împrospătarea mediului și scoaterea celui epuizat care conține produsul necesar; este metoda de „cultivare continuă"). Pentru speciile aerobe, randamentul este crescut prin aerare în toată masa de mediu folosind tehnici de barbotare cu aer steril etc.

(ii). *În scop diagnostic* (de microb sau/și de boală) sînt la fel de utile medii solide cît și lichide, repartizate în cantități mici, de mililitri și decilitri (în eprubete, balonașe, cutii Petri):

— *medii de izolare cu posibilități de cultivare pentru un cît mai larg număr de specii*; sînt în special utile în laboratorul clinic de microbiologie, în care cel mai adesea se pune problema izolării și identificării infectantului din sindroame care pot fi determinate de foarte numeroase specii;

— *medii de izolare selective și de îmbogățire*, pentru anumite specii, utilizate mai ales în supravegherea epidemiologică.

Mediile lichide sînt însămînțate cu produse patologice monomicrobiene (sînge), care dau culturi pure.

Mediile solide sînt valoroase pentru izolarea infectantului din produse contaminate (exsudat faringean); ele permit obținerea de *colonii izolate* și, consecutiv, prin reînsămînțare, de *culturi pure* ce vor servi pentru identificare; permit *numărătoare de bacterii*, fie în plăci însămînțate în suprafață, fie în plăci turnate (*inoculum* este amestecat cu mediul lichefiat și turnat apoi în placă Petri) etc.

În scopul identificării și studiilor de sistematică se utilizează o foarte largă gamă de *medii speciale* care permit punerea în evidență a caracterelor fiziologice de diferențiere a speciilor.

Mediile solide pun în evidență *aspectul coloniilor*, criteriu valoros pentru identificare.

Mediile solide au multe alte utilizări de ordin practic: *efectuarea antibiogramei difuzimetrice* (cea mai accesibilă), *observarea satelitismului, antagonismului* etc.

3. DINAMICA ÎNMULȚIRII BACTERIILOR

Microorganismele posedă toate funcțiile vitale: se nasc, se nutresc, cresc, se înmulțesc și mor. În stadiul actual, este practic imposibilă urmărirea ciclului complet de dezvoltare a bacteriilor în natură; studiul este posibil în condiții de laborator prin cultivare pe medii artificiale lichide și solide, optime din punct de vedere nutritiv și a condițiilor de cultivare. Ori care ar fi metoda, dinamica de cultivare urmează aceleași etape:

a) **Culturi în mediu lichid în vas închis.** *Inoculum* este reprezentat, fie de o mică cantitate de cultură de pe un alt mediu artificial, fie de un produs patologic conținînd bacterii. Numărul bacteriilor din *inoculum* nu este de obicei cunoscut (pot fi foarte puține sau foarte multe)*.

Cultivarea bacteriilor nu este un proces continuu, ci are loc într-o succesiune de faze; se pot înregistra:

(i) *Faza de lag* (latență), bacteria ajunsă în noul mediu nu începe imediat să se multiplice, ci după o perioadă de adaptare la noile condiții; în acest interval numărul bacteriilor poate să scadă. Perioada de lag este variabilă ca durată, fiind condiționată de:

specia bacteriană (la bacilul tific adaptarea durează 3—4 ore, în timp ce la bacilul tuberculozei durează cîteva zile);

calitatea nutritivă a mediului însămînțat și diferențele față de mediul din care provine *inoculum*; cînd acesta provine dintr-un alt mediu, sau este un produs patologic, adaptarea are loc mai încet, dacă provine din același mediu de cultură, adaptarea este mult mai rapidă;

vitalitatea bacteriilor însămînțate; într-o cultură veche, îmbătrînită, un produs patologic învechit, un proces supurativ cronic, bacteriile variază considerabil ca vitalitate, unele sînt viabile, capabile de multiplicare, altele moarte (cadavre), multe sînt degenerate (sferoplaști); astfel de bacterii se adaptează mai greu, în timp ce bacteriile din culturi tinere, din procese supurative acute, sînt active metabolic și se adaptează mai ușor.

---

* Metoda diluțiilor permite o evaluare cantitativă, totdeauna aproximativă; (micromanipulatorul permite preluare și însămînțare de bacterii, individual).

În cazul sporilor, transformarea în formă vegetativă cere uneori un timp și mai mare de adaptare.

Adaptarea reprezintă pentru bacterie refacerea echipamentului enzimatic (derepresii) necesar unei multiplicări active în condițiile noului mediu.

(ii) *Faza de accelerare a ritmului de creștere* : pe măsura adaptării, bacteriile din *inoculum* își încep multiplicarea, iar numărul lor în cultură crește treptat.

(iii) *Faza de multiplicare logaritmică* (exponențială), fază în care se atinge viteza maximă de înmulțire ; toate bacteriile se divid la intervale egale și numărul lor crește în progresie geometrică cu rația 2 *(la fiecare 15—30 min., de exemplu, numărul bacteriilor se dublează)*. Durata generațiilor variază și în raport cu specia : 20—30 min. pentru *Escherichia coli* și majoritatea bacteriilor patogene și condiționat patogene ; 2—3 ore pentru *Mycobacterium tuberculosis*.

În această fază a metabolismului cel mai activ, sînt evidențiate toate proprietățile morfo-anatomice și fiziologice care caracterizează specia : datorită aceluiași metabolism foarte activ, bacteriile în faza log. sînt considerabil mai sensibile la acțiunea agenților antibacterieni (antibiotice, chimioterapice).

Durata fazei de înmulțire logaritmică variază cu specia (este de cîteva ore pentru majoritatea bacteriilor, de 2 săptămîni pentru *M. tuberculosis*) și cu cantitatea de mediu*.

(iv) *Faza de încetinire* a ritmului de creștere este caracterizată prin scăderea ratei de creștere, lungirea intervalelor între generații ; o parte din bacterii mor încît numărul bacteriilor vii poate rămîne mai mult sau mai puțin *staționar. Intrarea în faza de încetinire a creșterii este cauzată, fie de epuizarea unui metabolit esențial, fie de acumulare de produși toxici de catabolism* (acizi produși prin fermentarea zaharurilor care duc la modificări de *p*H). Această fază durează de la cîteva ore (pneumococ), la 7—8 zile (tific, coli).

(v) *Faza de declin* : numărul bacteriilor rămase în viață scade continuu, practic nu mai are loc multiplicare.

Cînd cauza morții este o acumulare de factori toxici, această fază este foarte scurtă, urmată rapid de sterilizare : moartea tuturor bacteriilor din cultură, acumularea de cadavre bacteriene. Cînd cauza este epuizarea unui metabolit, insuficiență în oxigen (prin prea marea aglomerare a bacteriilor), faza de declin poate dura zile, săptămîni. În aceste cazuri, în cultură

---

* „Din fericire", faza de înmulțire logaritmică este autolimitată și limitată de cantitatea de mediu din vasul de cultură, și în natură : pentru că . . . , dacă o singură bacterie de volum mic, cu durata generației de 30 min., ar avea condiții optime de dezvoltare logaritmică timp de aproximativ 60 de ore (!), volumul coloniei ar atinge volumul pămîntului, iar în 3 zile (!) pe acela al soarelui.

Reversul practic al unor astfel de calcule este foarte important : ele exemplifică într-un mod plastic *necesitatea însămînțării imediat după recoltare a oricărui produs patologic natural sau accidental contaminat*, condiție obligatorie pentru a obține diagnosticul microbiologic ; ele exemplifică ce se întîmplă în bucătăria în care bucatele sînt menținute „la cald".

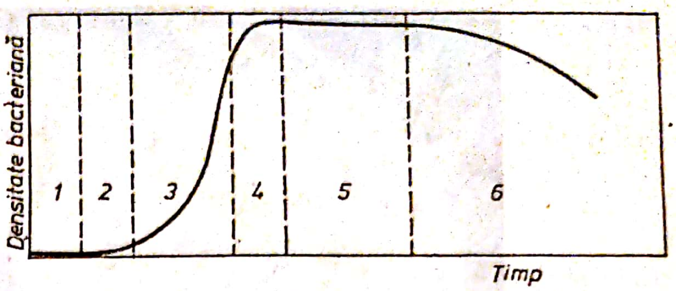


Fig. 22: Curbă de creștere a bacteriilor în mediu nereînnoit (în vas închis): 1. faza de latență (lag); 2. f. de accelerare; 3. f. logaritmică sau exponențială; 4. f. de încetinire; 5. f. staționară; 6. f. de declin. (După *Senez*, „*Microbiologie générale*", 1978)

apar forme de involuție, numărul lor este din ce în ce mai mare, iar moartea survine cel mai adesea prin liză sau fenomene de autodigestie și dezintegrarea corpilor bacterieni.

(vi) *Faza de autosterilizare* corespunde cu moartea întregii populații bacteriene. Excepție fac bacteriile care sporulează și care pot persista sub această formă de rezistență ani de zile (fig. 22).

A fost discutată cultivarea în vase închise, în cantități determinate de mediu, care este metoda uzuală de cultivare a bacteriilor în condițiile laboratorului de diagnostic.

b) **Culturi continue** (în chemostat). În scopuri de producție, este posibilă obținerea de culturi, cu prelungirea, după necesitate, a fazei de înmulțire logaritmică, în chemostate; prin împrospătarea mediului este realizată menținerea constantelor fiziologice necesare bacteriei respective (fig. 23).

c) **Conservarea culturilor.** Metodele de conservare trebuie să asigure supraviețuirea microorganismelor, evitarea acumulării de produși toxici de metabolism și a proceselor de autoliză, prin minimalizarea sau anularea metabolismului. Aceasta se obține prin refrigerarea culturilor (intrarea într-un stadiu de viață latentă). Pentru a minimaliza schimburile cu oxigenul atmosferic și pentru a împiedica desicarea, cauză frecventă a morții culturilor, acestea sînt acoperite cu un strat subțire de ulei mineral și închise etanș.

Metoda ideală pentru conservarea majorității microorganismelor este liofilizarea (cap. VI).

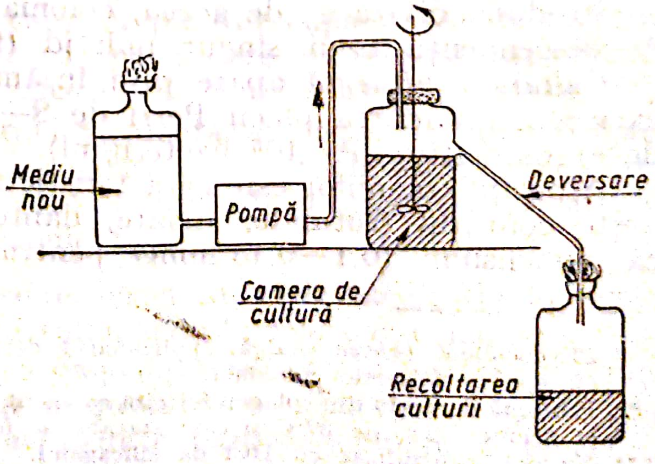


Fig. 23: Chemostat pentru culturi continue. (După *Senez*, „Microbiologie générale", 1978).

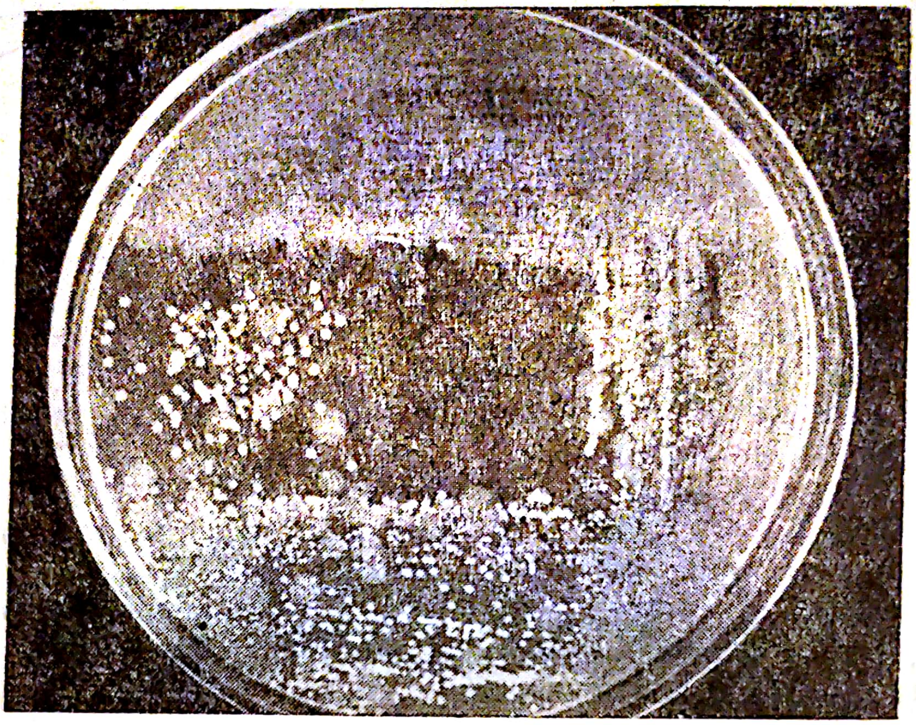


Fig. 24 : Colonii izolate prin însămînțare semicantitativă : colonii mici (*Staph. aureus*) ; colonii mari (*Esch. coli*) (prin bunăvoința dr. *Gabriela Coman*).

4. ASPECTUL CULTURILOR BACTERIENE

a) **Culturi pe medii solide.** Mediile lichide pot fi gelificate prin adaos de agar-agar*, gelatină**, silicagel*** ; geloza obținută prin adaos de agar are proprietățile cele mai avantajoase : nu este toxică, gelifică la 45°C, temperatură superioară temperaturilor de incubare, nu este atacată decît de foarte puține bacterii.

Pe medii solide, bacteriile cresc în suprafață (cu condiția eliminării oxigenului liber pentru anaerobe), iar cu excepția celor strict aerobe cresc și în profunzime, formînd culturi confluente sau colonii.

Colonie este masa compactă de bacterii descendenți ai unui singur individ, acumulată pe locul de însămînțare. În practică, dispersia bacteriilor din *inoculum* este rareori perfectă ; multe bacterii au tendința de a rămîne alipite după divizare ; de aceea, colonia nu este reprezentată întotdeauna de descendenții unui singur individ (fig. 24).

Cultura confluentă apare prin însămînțarea unui inoculum bogat (de exemplu, inundarea plăcii Petri de 8—12 cm, cu 1 ml dintr-o suspensie de aproximativ 10^5—10^6 bacterii/ml).

Aspectul coloniilor este caracteristic fiecărei specii : ele diferă în ce privește conturul (rotunde, stelate, dantelate, lobate, conopidiforme etc.), ca dimensiuni (0,1—0,15 mmØ pentru micoplasme, 0,5—1—3 mmØ, și mai mari pentru bacterii tipice), consistență (apoase, untoase, mucoase, filante, friabile), transparente sau opace, strălucitoare sau mate, plate sau bombate etc.

---

* Phycocolloid (*phyco* = algă), polizaharid derivat din alge marine roșii, care formează cu apa o dispersie coloidală.

** Proteină derivată din colagen folosită ca agent de gelificare, are dezavantajul că se topește la temperatura de 37°C și este atacată de foarte multe bacterii.

*** Na_4SiO_4 neutralizat cu HCl dă silicagelul.

În ceea ce privește culoarea, unele specii dau colonii pigmentate (cînd pigmentul este intracelular) sau colorează mediul de cultură (cînd pigmentul este difuzat extracelular); sintetizează diferiți *pigmenți*:

carotenoizi (hidrocarburi nesaturate), roşii—portocalii—galbeni; prezenţi la stafilococi, micrococi, sarcina;

chinonici (aparţin mai ales naftochinonelor şi antrachinonelor) pigmenţi galbeni sintetizaţi de *Pseudomonadaceae*, *Actinomyces*, *Mycobacterium*;

fenazinici, pigmenţi albastru-verzi, fluorescenţi, ca piocianina sintetizată de *Pseudomonas pyocyanea*;

pirolici, compuşi heterociclici cu caracter aromatic, ca prodigiozina, pigment roşu sintetizat de *Serratia marcescens (Bacillus prodigiosus)*.

Variația S—R și M—S—R. Aspectul coloniilor pentru o aceeași specie poate varia în raport cu mediul (măsura în care sînt asigurate sursele nutritive pentru diferitele structuri) și cu starea genetică a bacteriei, de la colonie *mucoidă* (M), la colonie netedă (S, *smooth*) și la colonie rugoasă (R, *rough*), în cazul speciilor capsulate; de la colonie S la colonie R, în cazul speciilor necapsulate.

Colonia M (mucoid) este mare, strălucitoare, de consistență mucoasă-apoasă; corespunde multor specii formatoare de capsule mari *(Klebsiella pneumoniae)*; pierderea capacității de sinteză a capsulei (care poate să aibă loc consecutiv unei variații genetice sau prin lipsa în mediul de cultură a unui sau unor metaboliți esențiali necesari) antrenează pierderea virulenței și modificarea coloniei spre S sau chiar R.

Colonia S (smooth) are suprafață netedă, lucioasă, contur circular, consistența untoasă-apoasă; este dată de bacterii la care structurile speciale ale stratului superficial al peretelui sînt bine sintetizate (bacili gram-negativ, coci gram-pozitiv, unele bacterii capsulate, *Str. pneumoniae*); pierderea capacității de a forma aceste straturi de înveliș antrenează pierderea virulenței și *rough*-izarea coloniilor.

Colonia R (rough) este rugoasă, neregulată ca contur, mată, de consistență uscată, formată de tulpini care au pierdut capacitatea de formare a capsulei, de bacterii necapsulate ca specie care au pierdut capacitatea de sinteză normală a structurilor speciale de perete, avirulente (fig. 25).

Excepții. Bacteriile a căror formă virulentă se așază în corzi *(Mycobacterium tuberculosis)* dau colonii rugoase sau conopidiforme; pierderea capacității de sinteză a factorului cord se însoțește de pierderea virulenței și de modificarea coloniei spre colonie S.

b) **Culturi pe medii lichide.** Bacteriile și micetele facultativ anaerobe se dezvoltă în toată masa de lichid tulburîndu-l; cele strict aerobe se dezvoltă numai în zona de penetrație a oxigenului solvit sau numai pe suprafața mediului, în peliculă, mediul în profunzime rămînînd limpede. (În medii aerate în profunzime — culturi agitate, barbotare cu curent de aer —

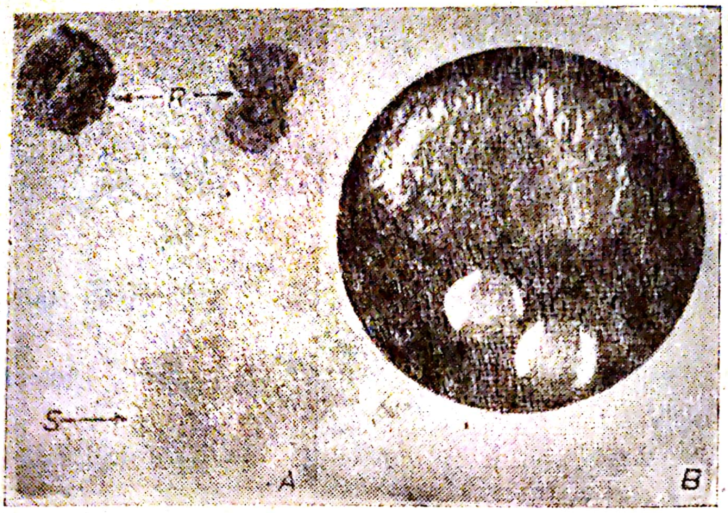


Fig. 25 : A : *Neisseria meningitidis*, colonii *smooth* (S) şi *rough* (R) ; B : *Salmonella typhi*, colonii S şi R (Din *Topley and Wilson's Bact. Immunity*, 1955).

dezvoltarea are loc în toată masa de lichid şi pentru aerobe). La adăpost de oxigenul atmosferic, anaerobele se dezvoltă în toată masa tulburînd mediul.

Cultura în mediu lichid este reprezentată de o suspensie a descendenţilor tuturor indivizilor viabili din *inoculum* ; cînd acesta este monobacterian, suspensia obţinută este o cultură pură ; cînd este mixt, cultura obţinută este un amestec de specii.

Variantele S dau o tulburare omogenă a mediului, variantele R dau tulburare mai puţin omogenă cu tendinţă de aglomerare a bacteriilor în flocoane, grunji care se depun formînd sediment bogat, mediul limpezindu-se treptat.

BIBLIOGRAFIE

1. BAILEY W. R., SCOTT E. G. : *Diagnostic microbiology*. Cap. 1 : *General requirements for cultivation of microorganisms*. Mosby Comp. Saint Louis, 1974.
2. BAKER F. J., BREACH M. R. : *Handbook of Bacteriological technique*. Cap. V : Cultivation of Micro-organisms. Butterworths, London, 1967.
3. BEERENS H., TAHON-CASTEL M. : *Infections humaines à bactéries anaérobies non toxigènes*. Presses Acad. Européennes, 1965.
4. MESROBEANU L., MARX A., STAVRI D., TEODORESCU G. : *Mediile de cultură în Bacteriologia medicală*. Ed. Med., 1961.
5. VERA H. D., DUMOFF M. : Culture Media. Cap. 95 în ,,*Manual of clinical Microbiology*. Ed. Lennette E. H., Spaulding E. H., Trauant J. P., Washington, 1974.

V. ROLUL ȘI RĂSPÎNDIREA MICROORGANISMELOR ÎN NATURĂ

Existența vieții pe pămînt a dus la selectarea de microorganisme (m.) cu cele mai variate posibilități de dezvoltare : de la specii care se înmulțesc pe seama materiei anorganice — pînă la specii care se dezvoltă numai în interiorul celulelor vii, la foarte diferite condiții de temperatură (—10°C — + 98°C), de *p*H (1—13), de concentrații saline (0,1—25%), presiuni hidrostatice (una pînă la mii de atmosfere), la lumină ca și la întuneric, în prezența și în absența aerului etc. ; m. pătrund odată cu apa și aerul în profunzimea corpurilor poroase, puțin dense, prin fisuri microscopice ale corpurilor compacte, metale, rocă, materiale sintetice etc. Sînt prezente în sol, în ape la toate adîncimile, în aer pînă acolo unde vîntul poartă praf și particule de apă, în medii inaccesibile altor forme de viață ca izvoare termale, sulfuroase, feruginoase, zăcăminte de petrol, soluri sărate, la toate latitudinile și altitudinile.

Poluează* și contaminează** toate suprafețele și cavitățile obiectelor, alimentele ; sînt prezente pe tegumente și majoritatea mucoaselor care căptușesc cavitățile normale ale corpului vegetal, animal, om. În condiții patologice pătrund în țesuturi și umori provocînd infecții ; în *mod normal, microbii nu sînt prezenți în țesuturile și umorile organismelor vii.* În rest, sînt prezenți peste tot și destul de omogen distribuiți ca specii datorită vehiculării prin curenți de aer, ape curgătoare, curenți marini și oceanici, animale și insecte migratoare. În ce privește m. patogene, acestea sînt vehiculate datorită marii circulații care are loc pe glob în secolul vitezei (trenuri, avioane, automobile etc.).

A. ROLUL MICROORGANISMELOR ÎN NATURĂ

Datorită atîtor posibilități metabolice, se poate afirma că microorganismele reprezintă cel mai important determinant al transformărilor geochimice la nivelul biosferei, asigurînd circulația materiei în natură și făcînd posibilă viața pe pămînt.

---

* *A polua* în sens microbiologic = *a murdări cu microbi.*

** *A contamina* = *a murdări cu microbi patogeni* ; *contaminare* : contact cu microbi patogeni proveniți din mediul extern, sau de la alți indivizi (om, animal).

Tot ceea ce este viu, animale, plante şi microbi, consumă carbon, azot, fosfor etc., şi sintetizează materie organică, realizîndu-şi ciclul de viaţă, se nasc, cresc, se înmulţesc şi mor, generaţiile succedîndu-se continuu. Prin moarte, în cadavre sînt fixate astfel toate elementele care intră în compoziţia materiei organice vii. Ţinînd seama de faptul că materia în natură nu se creează, ci numai se transformă, dacă un singur element, de exemplu *azotul*, ar fi astfel fixat fără a mai fi eliberat, el s-ar epuiza, solul s-ar acoperi de cadavre şi viaţa pe pămînt s-ar stinge: (i) microorganismele sînt singurele capabile să realizeze, prin procesul de descompunere, mineralizarea materiei organice şi eliberarea elementelor constitutive, făcîndu-le reutilizabile, repunîndu-le în circuit; (ii), iar bacteriile, *lithotrofe*, sînt singurele capabile să realizeze materie organică vie pornind exclusiv de la materia anorganică, punînd în circuitul organic structuri chimice pe care nici plante nici animale nu le pot altfel utiliza.

Permanenta circulaţie a elementelor chimice în natură de la anorganic la organic, de la materie moartă la vie şi invers, are loc prin două mari categorii de procese, descompunere şi sinteză, intervenţia m. fiind indispensabilă pentru realizarea continuităţii ambelor etape ale circuitului.

1. DESCOMPUNEREA MATERIEI ORGANICE ÎN NATURĂ

Prin descompunere, m. heterotrofe îndeplinesc funcţia de mineralizare, curăţirea solului şi apelor de cadavre, dejecte şi alte excrete, de deşeuri menajere, agricole, industriale etc.

Prin aceleaşi procese (descompuneri pentru procurare de energie şi realizarea propriilor sinteze, şi prin eliminarea produşilor de metabolism, a toxinelor în mediul intern al organismelor superioare, vegetale, animale, om), m. patogene determină procesul numit infecţie.

Rapiditatea cu care are loc descompunerea în natură depinde de numeroşi factori:

— complexitatea materiei organice (cu cît este mai complexă cu atît este mai greu descompusă);

— condiţiile de temperatură (descompunerea este rapidă în sezon cald şi lentă în sezon rece, este anulată la temperaturi de congelare; în gheţari persistă şi azi cadavre intacte din era glacială);

— condiţiile şi gradul de solubilizare a compuşilor chimici, mersul descompunerii fiind diferit în sol şi în apă etc.

Apa solubilizează şi diluează rapid toate structurile hidrosolubile (zaharuri simple, alcooli, aminoacizi), descompuse apoi uşor de numeroase specii microbiene; structurile insolubile în apă (amidonuri, hemiceluloze, proteine) sînt destul de uşor scindate enzimatic de multe specii şi apoi solubilizate; puţine specii sînt capabile să descompună însă celuloze şi mai ales structuri complexe ciclice (fenolice, uleiuri, petroluri, lignină etc.). În apele curgătoare, bine oxigenate, mersul descompunerii este mai rapid deoarece intervin numeroasele specii aerobe, inclusiv fotosintetizante. În ape stătătoare, la un metru adîncime, oxigenul lipseşte, ne mai fiind active decît m. anaerobe incapabile să desfacă complet anumite structuri care se acumulează formînd depozite de materie organică incomplet descompusă, noroiul de mlaştină.

Umbreit figurează foarte sugestiv mersul descompunerii în sol în raport de gradul de complexitate a diferitelor structuri organice (fig. 26).

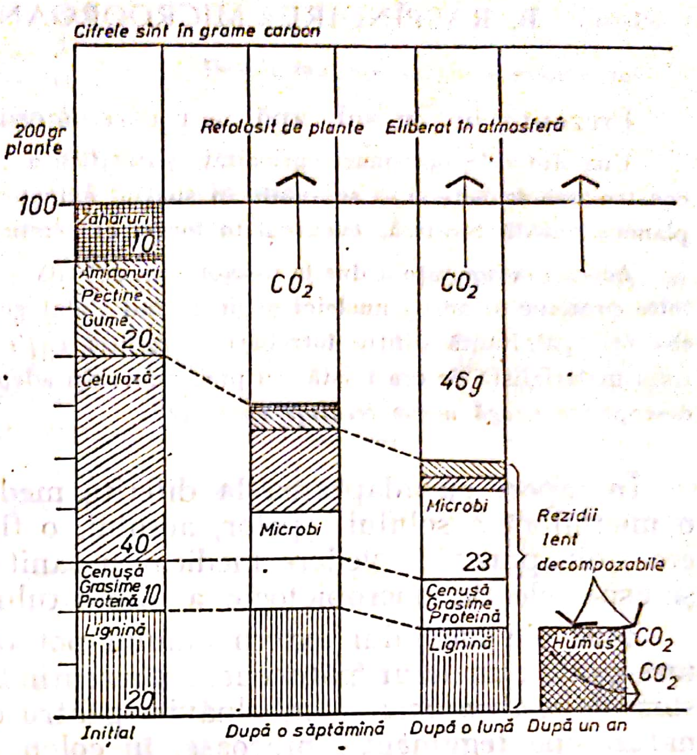


Fig. 26 : Mersul descompunerii în sol. (fig. 18—3 din „Modern Microbiology" de *Wayne W. Umbreit*, Edit. W. H. Freeman & Co 1962).

2. CIRCUITUL ELEMENTELOR CHIMICE ÎN NATURĂ

Vom reprezenta acest uimitor exemplu al unității și mișcării materiei în timp și în spațiu — principală categorie a materialismului dialectic — prin schemele lui *Umbreit*, foarte simplificate și prin aceasta deosebit de evocatoare, cu locul bacteriilor în asigurarea circuitului diferitelor elemente; figura 27 indică momentul în care intervenția lor asigură continuitatea circuitului carbonului. În afară de diamant — carbon chimic pur cristalizat — și de grafit, toți compușii carbonului pot fi descompuși de anumite bacterii.

Figura 28 sintetizează etapele majore în care m. intervin în realizarea ciclului azotului: *amonificare, nitrificare, reducerea nitraților, fixarea azotului molecular, asimilarea azotului*; la care se adaugă și etapa *denitrificare*, eliberarea azotului molecular ($NO_3 \rightarrow N_2$).

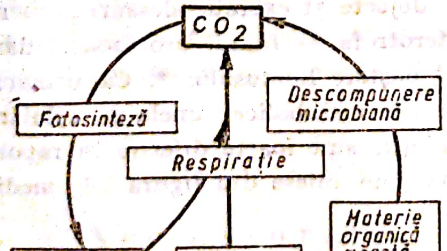

CO_2
Fotosinteză
Descompunere microbiană
Respirație
Plante
Animale
Materie organică moartă

Fig. 27 : Diagramă simplă a ciclului carbonului. (Fig. 18—6 din „Modern Microbiology" de *Wayne W. Umbreit*, 1962).

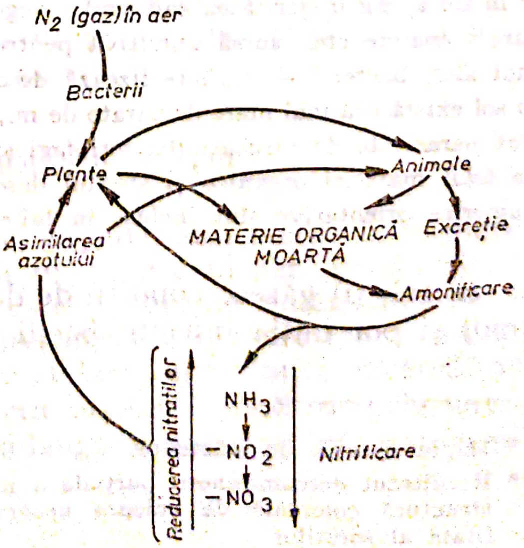

N_2 (gaz) în aer
Bacterii
Plante
Animale
Asimilarea azotului
MATERIE ORGANICĂ MOARTĂ
Excreție
Amonificare
Reducerea nitraților
NH_3
$-NO_2$
$-NO_3$
Nitrificare

Fig. 28 : Ciclul azotului. (Fig. 18—8 din „Modern Microbiology" de *Wayne W. Umbreit*, Edit. W.H. Freeman and Co. 1962).

B. RĂSPÎNDIREA MICROORGANISMELOR ÎN NATURĂ

Prezența m. în sol, apă, aer este aceea care delimitează *biosfera.*

Una din cele mai mari curiozităţi ştiinţifice a contemporanilor, care i-a determinat să construiască rachete şi să se avînte în spaţiul extraterestru, este aceea de a afla dacă şi alte planete posedă biosferă, eventual în forma ei „embrionară", a microorganismelor.

Aceeaşi curiozitate a dus la dezvoltarea actuală a *biologiei moleculare* care, găsind relaţia între proteine şi acizii nucleici şi descifrînd codul genetic, tentează căutarea răspunsului la cea mai palpitantă dintre întrebări, *„originea vieţii pe pămînt"*; răspuns care separă filozofia materialistă de cea teistă (cu prea numeroşi adepţi în secolul XX, în care fiecare mare descoperire *neagă aceste credinţe empirice*).

În raport cu adaptarea la diferite medii naturale, se poate diferenția o microfloră a solului, apelor, aerului, o floră a corpului uman și animal etc.; din punct de vedere medical și sanitar, importante probleme ridică și aspectele de microbiologie a alimentului și medicamentului.

Zone ale mediului extern omului pot oferi condiții optime de dezvoltare pentru unele m. patogene, reprezentînd *habitatul** lor natural și, astfel, *surse de contaminare* și îmbolnăvire pentru om, iar m. patogene cu habitat natural pe tegumente, mucoase, în colon, și chiar unele parazite, ajunse în mediul extern pot supraviețui în apă, sol, alimente, care devin astfel *căi de contaminare*. Studiul acestor medii înseamnă cunoașterea surselor și căilor de contaminare (cap. XI).

1. ASPECTE DE MICROBIOLOGIE A SOLULUI

Solul este pătura superficială a scoarţei terestre caracterizat prin structura poroasă în care pătrunde apă şi aer, de cîţiva centimetri pînă la cîţiva metri grosime; este stratul cu viaţă, pe şi în care trăiesc vegetale, animale, în care trăiesc majoritatea bacteriilor lithotrofe. Pe şi în sol ajung majoritatea cadavrelor vegetale şi animale, dejecte şi excrete, deşeuri alimentare menajere etc., sursă nutritivă pentru numeroase heterotrofe — fungi, protozoare, dar, mai ales, bacterii — care realizează descompunerea dînd naştere humusului**. Ca urmare, în sol există cea mai mare densitate de m., de toate categoriile metabolice; unele m. celulare sînt parazitate de virusuri (bacteriofagi şi actinofagi). Valorile sînt foarte diferite în raport de felul materiei organice şi stadiul descompunerii, după cum reiese din figura 26; medii numerice orientative sînt incluse în tabelul 7.

În sol, (i) găsesc condiții de dezvoltare unele specii care pot contamina omul și pot iniția infecții, bacili gram-negativ (*Proteus, Serratia, Hafnia,*

---

* Mediu natural de existenţă.

** Rezultatul descompunerii parţiale a materiei organice în condiţiile solului, substanţă cu structură coloidală de culoare neagră, în raport de care este apreciat gradul de fertilitate al solurilor.

Enterobacter), bacili gram-pozitiv din genurile *Listeria*, *Erysipelothrix*, *Actinomyces*, micrococi gram-pozitiv; (ii) supraviețuiesc sporii bacteriilor din genurile *Bacillus* și *Clostridium*; (iii) specii comensale și chiar parazite pot *supraviețui* uneori îndelung (BK).

Ajunse în sol, m. sînt vehiculate pe *praf*, de *ape*, preluate de *rozătoare* (care pot deveni gazde intermediare periculoase pentru pestă, tifus murin, leptospiroze, histoplasmoze, salmoneloze, tularemie etc.), de *insecte*, mai ales *Musca domestica*, musca de carne și de gunoi; acestea pot deveni gazde în care m. se înmulțesc, sau simpli *vectori* la fel de periculoși; uneori cei mai importanți în vehicularea la distanță a infecțiilor intestinale, distanța de zbor a muștelor fiind de aproximativ 10 km. Bacilul tuberculozei persistă în sol săptămîni și luni de zile (în raport cu gradul de însorire); speciile *Salmonella* pot persista în timpul verilor uscate pînă la 35 de zile în sol irigat cu ape de scurgere și pînă la 70 zile în timpul iernilor umede.

Tabelul 7

Densitatea microorganismelor în sol
(cifre medii)

Microorganisme	număr/gram sol
bacterii	1 000 000—20 000 000
actinomicete	100 000—20 000 000
fungi	10 000— 1 000 000
protozoare	10 000— 1 000 000
alge	10 000— 800 000

(Prelucrat după „Modern Microbiology" de Wayne W. Umbreit, 1962, W. H. Freeman and Comp. și „Microbiology and Epidemiology" de La Verne Ruth Thompson, 1958).

Solul constituie factorul principal de contaminare a plăgilor cu spori de *bacil tetanic*, *bacteriile gangrenei gazoase*, *bacteridie cărbunoasă*, ca și factorul principal de contaminare a alimentelor vegetale și animale cu spori de *bacili botulinici*; praful este principala sursă a micozelor superficiale și sistemice; reprezintă totodată depozitul ouălor de helminți și alți viermi intestinali.

Ca urmare, poluarea microbiologică a solului prin deșeurile solide menajere și agricole, în care sînt prezente m. patogene, pune importante probleme de sănătate publică.

Un comitet internațional de experți al OMS* se ocupă de elaborarea metodologiilor și oferă asistență privind colectarea, reducerea, tratarea și eliminarea deșeurilor solide; stabilesc coduri practice de împiedicare a propagării infecțiilor prin rozătoare și insecte, a poluării apelor cu deșeuri patogenice, metode adaptate pentru colectivități umane mari și mici, în raport de condițiile de mediu particulare fiecărui centru populat.

2. ASPECTE DE MICROBIOLOGIE A APEI

a) **Ape naturale**. Apele de ploaie, zăpadă, sînt sterile la formare, dar înainte de a ajunge pe sol înglobează m. ajunse în aer. Prima ploaie este cea mai încărcată (zeci de m./ml); este o noțiune înpămîntenită că „aerul este curat după ploaie". Apele provenite din izvoare foarte adînci sînt de asemenea sterile la sursă. În general însă, apele au o încărcătură microbiană în raport cu conținutul în materie organică. Cînd în apele naturale sînt deversate ape de scurgere se adaugă numeroase m. patogene.

---

* Organizația Mondială a Sănătății.

b) **Apele de scurgere*** primesc odată cu excretele flora normală a organismelor și totalitatea m. patogene prezente în comunitatea de la care provin; deversate în ape naturale, uneori, înainte de a fi decontaminate, le contaminează și pe acestea. *De aceea, una din principalele probleme de asigurare a sănătății în centrele populate este aplicarea metodelor, din ce în ce mai elaborate, de decontaminare a apelor folosite înainte de a fi refolosite (irigații, industrii), sau deversate în ape naturale.*

Prima etapă a acestui proces este epurarea apelor de materia organică, cea mai bună metodă fiind de asemenea cea biologică — prin bacterii aerobe — în sisteme științific realizate — în straturi subțiri (problemă de *inginerie sanitară*). Aceste metode țin seama și de *viabilitatea patogenilor* în ape (care pot supraviețui metodelor biologice, de la cîteva zile, la cîteva luni). Acești patogeni vor fi omorîți în etapa chimică a purificării (clorinare).

c) **Apa potabilă** este o apă naturală cît mai pură (limpede, inodoră, incoloră), care conține un cît mai mic număr de m. și este lipsită de m. patogene. Pentru a obține o apă potabilă bună, este ideală colectarea la izvoare; cum acest lucru nu este totdeauna posibil, cel mai frecvent se folosesc ape curgătoare. Avînd în vedere poluarea fecală prin ape de canal care *poate* avea loc în *amonte*, apa poate deveni sursă a infecțiilor cu poartă de intrare digestivă. Într-adevăr, epidemiile prin m. intestinale, febra tifoidă, holera, leptospiroze, poliomielită, hepatită epidemică, sînt adesea de origine hidrică. Profilaxia acestora începe cu *asigurarea condițiilor optime de igienă a apei de băut, scăldat, spălat*; folosirea fără pericol devine posibilă datorită *autopurificării, purificării* și *supravegherii sanitare.*

(i) *Autopurificarea*: cantitățile mici de substanțe nutritive din ape, temperatura scăzută, antagonismul impus de flora normală a apelor, bacteriofagia (cap. VIII), acțiunea bactericidă a radiațiilor UV, împiedică înmulțirea bacteriilor patogene în ape, purificîndu-le. După cîțiva kilometri în *aval* de centrele populate, apele curgătoare de colectare a apelor de scurgere sînt lipsite practic de patogeni. Nu se știe prea bine ce se întîmplă cu virusurile și în special cu virusul hepatitei epidemice. Alegerea punctului de colectare a apei, ținînd seama de posibilitățile de autopurificare, este foarte importantă.

(ii) *Purificarea microbiologică* poate fi realizată și prin folosirea științifică a metodelor de *sedimentare, filtrare* și *decontaminare chimică* (clorinare) la sursă.

(iii) *Supravegherea sanitară* constă în verificarea gradului de contaminare prin *numărătoarea bacteriilor* (indiferent de specie) și verificarea poluării fecale prin *colimetrie* (*Escherichia coli*, bacterie normal prezentă în intestin). Prezența *E. coli* în apă indică contaminarea fecală și posibilitatea prezenței bacteriilor, virusurilor și protozoarelor patogene de origine intestinală, care circulă în colectivitatea respectivă (în concluzie, insuficiența metodelor de purificare aplicate de gospodăria comunală).

---

* Ape fecalo-menajere, *ape folosite*, ape de canal.

Pentru ca o apă care alimentează un centru populat cu peste 70 000 locuitori să fie considerată potabilă, *numărul total de bacterii* nu trebuie să depăşească 20/ml apă, iar *colimetria* să nu depăşească 0—3 *E. coli* /litru; în centre mai mici ($<$ 70 000), limitele sînt mai înalte, *100 bacterii în total/ml* şi $\leqslant$ *10 E. coli/l*; în centre alimentate de fîntîni se admit în mod excepţional 300 bacterii/ml şi $\leqslant$ *100 E. coli/l*. Este cunoscut însă că filtrarea şi clorinarea care pot elimina în totalitate coliformii *nu asigură şi eliminarea virusurilor şi a nematodelor.*

Eficienţa acestor măsuri sanitare este total dependentă de calitatea sistemului de aducţie şi distribuţie a apei potabile şi de evacuare a apelor folosite. *Contribuţia hotărîtoare a ingineriei sanitare la prevenirea infecţiilor de origine hidrică şi alimentară poate fi măsurată numai prin izbucnirile epidemice care apar ca urmare a unor deficienţe ce permit pătrunderea apelor din reţeaua de canalizare în reţeaua de apă potabilă: zeci şi sute de cazuri de febră tifoidă, dizenterie amoebiană şi bacilară, holeră, hepatită, poliomielită etc. înregistrate episodic în populaţia alimentată de un sistem defectuos*; spitalizări, tratamente, pierderi de vieţi, construcţii şi întreţineri de spitale sînt mult mai costisitoare decît o bună supraveghere inginerească a acestor instalaţii.

Comitete de experţi OMS elaborează şi furnizează sistematic documentaţii privind metodele ştiinţifice de evacuare igienică a apelor folosite şi de aprovizionare cu ape potabile a centrelor populate.

O altă posibilitate de contaminare prin apă este *scăldatul*, mai ales în ape dulci stătătoare, piscine incorect întreţinute igienic care pot deveni rezervoare şi căi de transmitere a numeroase infecţii cutanate (micoze, stafilococii), conjunctivale (conjunctivita de piscină), sistemice (leptospiroze) etc. (tabel 8).

Tabelul 8

Agenţi cu acţiune nocivă asupra sănătăţii prezenţi în alimente şi apă

Agenţi patogeni	Efecte posibile asupra sănătăţii
Bacterii	Infecţii gastro-intestinale epidemice şi endemice (febră tifoidă, holeră, dizenterie, salmoneloze, leptospiroză etc.);
Virusuri	Infecţii virale (hepatita epidemică; inflamaţii ale ochiului şi pielii prin îmbăiere);
Protozoare şi Metazoare	Amoebiază; schistosomiază; hidatidoză şi altele.

Sursa: Raport OMS către Directorul General, la a 24-a Adunare Mondială a Sănătăţii, aprilie 1971, Anexa 2, pag. 4 (redus).

3. ASPECTE DE MICROBIOLOGIE A AERULUI

M. nu se înmulţesc în aer dar unele supravieţuiesc şi sînt inhalate odată cu aerul: persistenţa lor este favorizată de ceaţă şi cer acoperit; de aceea persistă mult în încăperi şi mai ales în acelea neînsorite. În centre populate

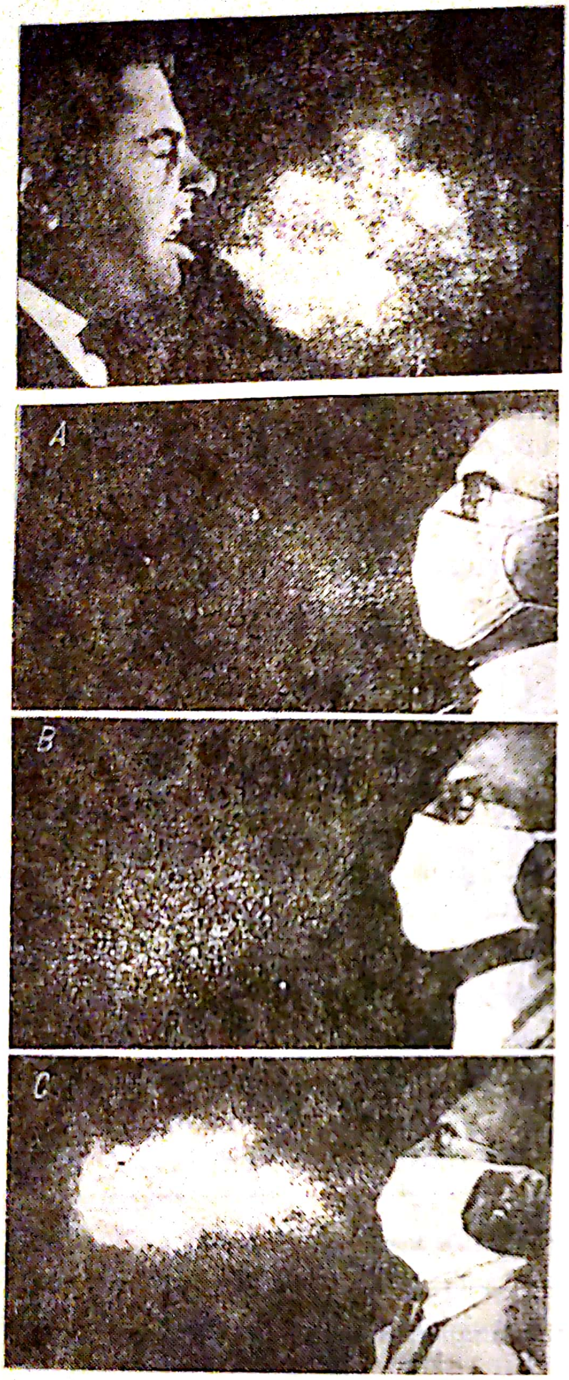


Fig. 29 : *Sus*. Dispersia de picături consecutiv unui strănut violent. Cea mai mare parte din particule (circa 20 000) provin din gură. Datorită iluminării oblice pot fi văzute și particule mici de 5–10 μm (în imagine, sînt mărite). (*Jenninson, M.W.*, 1947). *A, B, C.* Protecția pe care o conferă măștile variază foarte mult. (Din *La Verne Ruth Thompson* „Microbiology and Epidemiology", W. C. Saunders Comp. Philadephia, 1958, p. 283).

foarte aglomerate, numărul lor este apreciat la aproximativ 2 000 000/m^3; iar 1 m^3 corespunde volumului de aer care pătrunde și iese din plămîni în aproximativ 2 ore.

a) *Majoritatea m. din aer provin din sol.* Vehiculate de curenți odată cu particulele de praf, ele reprezintă principala sursă a *micozelor pulmonare*; aerul este cea mai frecventă cale de contaminare în *tuberculoza pulmonară* (bacilii Koch ajung pe sol odată cu sputa); inhalarea prafului din ferme poate genera infecții de origine animală ca *febra Q* (pneumonie dată de *Coxiella burnetii*); prelucrarea unor produse, piei, lînă, provenite de la animale bolnave, poate genera *cărbune pulmonar* etc.

b) *O altă categorie de m. ajung în aer expulzate de pe mucoasele și epiteliul respirator* prin strănut, tuse, vorbire, prin aerosolii fini, microscopici, numiți picăturile lui Pflügge (fig. 29), de la purtători sănătoși și bolnavi cu infecții bronhopulmonare, ale căilor respiratorii superioare (rinite, faringite, amigdalite), ale cavităților anexe (sinuzite, otite etc.)*.

Densitatea cea mai mare a acestor m. este în aerul din încăperile bolnavilor bronhopulmonari, aceasta *era* calea de propagare a marilor epidemii aerogene date de bacterii: *pesta pulmonară* (care cuprindea pînă la 80% și chiar 100% din indivizii neimunizați ai unei colectivități), *difterie, tuse convulsivă*; *este* calea de transmitere a periculosului streptococ β-hemolitic serogrup A, a meningococului generator al meningitei cerebrospinale epidemice; propagarea aerogenă este calea de transmitere în gripă și alte viroze respiratorii, guturai, varicelă, rujeolă, oreion etc.

---

* Se afirmă că strănutul proiectează picături Pflügge pînă la 4 metri, și cu fiecare strănut s-ar elimina în atmosferă (încăpere) pînă la 85 000 000 de particule virale.

În încăperi, numărul variază de la cîteva sute/m^3 (încăperi foarte curate, fără mişcări de aer) pînă la 20 000/m^3 şi mai mult (saloane de spital în momentul primenirii paturilor).

Vehicularea *bacteriilor patogene* în aer este îndeosebi periculoasă în spitale, unde concentraţia lor este cea mai mare. *Si în prezent, acesta este principalul mecanism care generează infecţii de spital în secţii în care „secreţiile purulente se pot transforma uşor în praf"* . . .

4. ASPECTE DE MICROBIOLOGIE A ALIMENTELOR

Alimentele reprezintă bune medii de cultură pentru multe bacterii şi fungi; în alimente pot persista şi m. strict parazite (rickettsii şi virusuri). Înmulţirea şi prezenţa lor în alimente generează două categorii de neajunsuri: (a) alterarea alimentelor şi (b) boli; ambele pun probleme de (c) prevenire.

a) **Alterarea microbiologică a alimentelor** are un important aspect economic, alimentul alterat nu poate fi consumat; chiar alterări minime duc la modificări dezagreabile de gust şi miros. *Evitarea alterării microbiene* comportă metode a căror necesitate creşte mereu în societatea modernă care impune *conservarea* îndelungată a alimentelor şi trecerea treptată de la alimente prelucrate în casă la alimente prelucrate industrial, cu supraveghere sanitară microbiologică. De exemplu, un lapte care conţine peste 200 000 bacterii/ml nu este acceptabil nici pentru pasteurizare. Această cifră depinde de gradul de exigenţă a metodelor de curăţenie şi asepsie luate la colectarea şi transportul laptelui.

b) **Boli transmisibile prin alimente.**

(i) *Intoxicaţii* alimentare de origine microbiană, cu totul accidentale sînt date de toxinele bacililor botulinici şi de aflatoxinele unor mucegaiuri, eliberate în alimente; aceste toxine puternice pot determina boli chiar în absenţa corpilor microbieni.

(ii) *Toxiinfecţiile* sînt generate de ingestia de alimente în care bacteriile s-au înmulţit considerabil şi au excretat cantităţi mari de exoenzime şi exotoxine şi au eliberat „endotoxine" prin autoliză; cele mai multe toxiinfecţii sînt date de numeroasele serotipuri ale genului *Salmonella*, de *Staph. aureus* enterotoxic, mai rar de *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens* şi alte specii.

(iii). *Infecţii* grave cu poartă de intrare digestivă sînt date de bacterii şi virusuri, care *supravieţuiesc* în aliment: tuberculoză de origine bovină, bruceloze, dizenterie bacilară etc., hepatită epidemică, poliomielita (tabel 9).

c) **Metodele de prevenire a alterării microbiene şi a bolilor transmise prin alimente** sînt aceleaşi şi înseamnă evitarea contaminării, distrugerea şi împiedicarea înmulţirii bacteriilor.

(i) *Sterilitatea* este condiţia de conservare practic indefinită a alimentelor. Înainte de a se cunoaşte cauza rapidei lor alterări (1810), *Appert** inventa metoda de închidere ermetică şi încălzire pentru păstrarea alimentelor, cutia de conserve.

---

* Concurînd pentru un premiu oferit de *Napoleon* pentru dezvoltarea artei de a prezerva alimente în cutii închise.

Pe de altă parte, cutia de conservă insuficient încălzită — pînă la omorîrea tuturor sporilor — oferă condiții ideale pentru germinarea sporilor de *Cl. botulinum*, bacterie anaerobă, și producerea celei mai puternice toxine existente, toxina botulinică.

Tabelul 9

Originea microorganismelor patogene în aliment

Produse provenite de la animale bolnave :
lapte de la bovine tuberculoase,
lapte și carne de la animale cu bruceloză,
,, ,, ,, ,, ,, ,, ,, salmoneloze,
ouă de la păsări cu salmoneloze etc.

Vegetale și carne contaminate cu pămînt conținînd spori de
Clostridium botulinum (rezistă pînă la 8 ore la 100°C),
Clostridium perfringens,
Bacillus cereus ;

Pește și crustacee contaminate cu apă poluată pot genera :
holera,
hepatita epidemică,
salmoneloze ;

Vegetale poluate de ape de irigare contaminate pot genera :
parazitoze și
bacterioze intestinale

Manipularea neigienică a alimentelor (mîini murdare, picături Pflügge, muște) * este calea cea mai frecventă de contaminare cu bacterii producătoare de toxiinfecții alimentare (stafilococi și enterobacterii).

Preparare neigienică și conservarea necorespunzătoare a
cărnii, laptelui, cremelor îndulcite, înghețate etc.
pot genera :
toxiinfecții stafilococice,
,, salmonelozice.

* Muștele transportă microorganisme din depozitele de materie organică — dejecte — pe alimente : ele defecă de 3—11 ori pe oră și regurgitează de 6—15 ori pe oră pentru a se hrăni din nou.

Sterilizarea termică este ideală ca principiu, dar nu poate fi aplicată tuturor alimentelor. Pentru alimente consumate în interval scurt de la producere, cum este laptele, se preferă *pasteurizarea*, încălzire la temperaturi mai joase*, prin care, fără a se obține sterilizare, sînt omorîte formele vegetative inclusiv nesporulații patogeni cei mai rezistenți *(Myc. tuberculosis și bovis).*

(ii) *Metode de împiedicare a metabolismului și înmulțirii microbiene :* *conservarea prin deshidratare* suprimă o condiție esențială a metabolismului — apa ; deshidratarea se obține prin *uscare la cald* (verdețuri, legume, fructe, carne) și prin *uscare osmotică*, saramurare (verdețuri, legume, brînzeturi), hiperzaharare (fructe, dulcețuri) ;

conservare la temperaturi scăzute la care metabolismul încetinește sau încetează : stocajul legumelor în pivnițe bine uscate (8°—12°C), în frigidere (4—10°C), cea mai bună metodă fiind congelarea (—20°,—30°C) ;

conservare prin acidifiere, puține bacterii cresc la *pH* 4—5 ; mucegaiurile se dezvoltă însă bine ;

---

* Încălzire 30 min. la 62—66°C sau 20 secunde la 72°C (în strat subțire).

combinarea acestor factori de conservare este şi mai eficientă în prevenirea înmulţirii bacteriilor şi micetelor; combinarea se face în raport cu tipul de aliment.

(iii) *Manipularea igienică* este o metodologie complexă care are ca scop prevenirea contaminării alimentelor cu numeroase m. generatoare de infecţii şi toxiinfecţii (cele mai multe de origine fecală) transportate prin mîini murdare, sau cu m. de pe mucoasa tractus-ului respirator expulzate prin strănut, tuse, vorbire etc.

(iv) *Dezmuştizarea*: evitarea contaminării este treapta cea mai evoluată a igienii alimentare atît în menaj, cît şi în sectoarele de alimentaţie publică (cantine, restaurante, magazine alimentare, cofetării etc.). Pentru a fi mai sugestivi privind necesitatea supravegherii microbiologice a alimentelor şi a apei, reproducem tabelul 10.

Tabelul 10

Principalele boli intestinale şi căi obişnuite de transmitere

Boala	Agentul patogen	Căi obişnuite de transmitere
holeră	*V. cholerae* (inclusiv *El Tor*)	om—fecale—apă şi alimente—om
febră tifoidă	*S. typhi* *S. paratyphi* A, B, C	om—fecale—alimente şi apă—om om—fecale—alimente şi apă—om
dizenterie bacilară	*Shigella* sp.	om—fecale—muşte—aliment—om (apă)—om
dizenterie amibiană	*Ent. hystolitica*	om—fecale—muşte—aliment—om (apă)—om
hepatită infecţioasă	Virusul hepatitei A	om—fecale—apă şi aliment—om
boli diareice	bacterii *, paraziţi, virusuri	om—fecale—muşte—aliment—om (apă)—om

(*S. Rajagopalan*: „Mesures d'hygiène simples contre les maladies intestinales", OMS, 1975)

* Animalele şi păsările sînt gazdele anumitor *Salmonella*; boala este adesea transmisă prin consumul cărnii infectate, insuficient fiartă.

Astfel de date demonstrează clar că cele mai eficiente metode de luptă împotriva numeroaselor boli intestinale sînt măsurile sanitare simple, de igienă.

În concluzie, o alimentaţie igienică (fără riscuri pentru sănătate) comportă consumarea alimentelor nealterate microbian şi lipsite de floră patogenă.

5. ASPECTE DE MICROBIOLOGIE A MEDICAMENTULUI

De un deosebit interes medical este cunoaşterea posibilităţilor de contaminare a medicamentului şi a altor produse farmaceutice, şi a consecinţelor acestei contaminări. Datorită diversităţii şi complexităţii de compoziţii chimice, medicamentele sînt adesea bune medii de cultură pentru bacterii și ciuperci; diversitatea de tipuri metabolice face ca întotdeauna să se găsească specii capabile să se dezvolte în cele mai diverse medicamente, dacă sînt întrunite și condițiile de cultivare (temperatură, *p*H, oxigen, umiditate etc.); *contaminarea medicamentului are loc ori de cîte ori sînt neglijate regulile de manipulare aseptică* de către farmacist, medic, bolnav.

Există de asemenea posibilitatea ca materia primă folosită pentru prepararea unor produse farmaceutice să fie contaminată, cazul unor produse de origine animală, umană, vegetală (prezența sporilor de bacil tetanic în catgut, a virusului hepatitei B în sîngele pentru transfuzii).

Preparatele de oficină, pot fi contaminate cu m. de pe mucoasa nazofaringeană, din aer, prin mîini murdare; în cazul nerespectării riguroase a metodologiei lucrului aseptic este posibilă contaminarea medicamentelor cu stafilococi, piocianic, bacterii intestinale etc. Prezența și dezvoltarea m. în medicament poate determina:

alterarea medicamentului pînă la anularea principiului farmacologic activ, medicamentul devenind inutil;

intoxicații prin acumularea de produși toxici de descompunere a medicamentului și de pirogeni bacterieni;

infecții prin m. patogene: tetanosul chirurgical nu este doar o tragică amintire; hepatita virală posttransfuzională nu este încă o problemă rezolvată (necesită identificarea și excluderea donatorilor purtători de virus); flegmonul consecutiv injecțiilor, conjunctivite bacteriene și virale prin colire contaminate etc., nu sînt rarități... Utilizarea medicamentului contaminat și alterat poate fi nu numai inutilă, ci și periculoasă.

Prima condiție a oricărui medicament este să nu fie dăunător; din punctul de vedere microbiologic, acest deziderat este asigurat prin sterilitate și apirogenitate.

Sterilitatea medicamentului

Aceasta era recunoscută pînă nu de mult de farmacopee ca o necesitate numai pentru soluțiile injectabile; logica microbiologică impune ca orice medicament să fie steril și această logică prinde mereu teren.

Apirogenitatea

Este condiție obligatorie pentru soluțiile injectabile. S-a constatat că unele soluții medicamentoase sterile sînt pirogene; injectate mai ales intravenos determină reacții patologice fără nici un raport cu agentul terapeutic: frison care apare în circa 4 ore după injecție, febră de 40°C și mai mult, cu durată de 4—12 ore, limfopenie și chiar moarte prin *șoc*.

Azi se știe că pirogenii sînt produse bacteriene reprezentate de complexele solubile lipopolizaharidice prezente în pereții bacililor gram-negativ numite „endotoxine"*; *șocul pirogenic medicamentos este șoc endotoxinic. Prezența lor în medicament se datorește încărcării microbiene a produselor*

---

* Bacilii gram-negativ sînt reprezentați de un foarte mare număr de specii cu generală răspîndire în mediul extern, ape, sol, aer, prezenți constant în colon și pe mîini murdare.

folosite pentru preparare și mai ales înmulțirii acestor bacterii în timpul procesului tehnologic, pînă la sterilizare. Pirogenii sînt substanțe filtrabile prin filtrele care rețin bacteriile și rezistente la temperaturile obișnuite de sterilizare (rezistă pînă la 4 ore la 120°C, 2 ore la 200°C, 40 minute la 250°C). Cu cît regulile de asepsie sînt mai puțin respectate în timpul procesului tehnologic, cu atît cantitatea de pirogen este și ea mai mare, soluția injectabilă mai periculoasă. În consecință, *soluțiile injectabile trebuie să fie nu numai sterile, ci și apirogene.* De această necesitate trebuie să fie conștient în primul rînd medicul responsabil de efectele medicamentului.

Depirogenarea se poate obține prin metode laborioase (filtre speciale, absorbție pe cărbune, tratare termică, chimică cu acizi și baze tari) și costisitoare. Dar nu toate medicamentele pot fi sterilizate și depirogenate; antibioticele de exemplu nu suportă nici temperaturi de sterilizare finală eficientă*, și cu atît mai puțin pe acelea de depirogenare. De aceea, *singura posibilitate de a obține soluții injectabile sterile și apirogene este* **introducerea și respectarea cu strictețe a metodologiei lucrului aseptic** *pe tot parcursul procesului tehnologic pentru evitarea contaminării, sterilizarea prealabilă a ingredientelor care suportă sterilizare, utilizarea de materii prime corect conservate.*

Metodele de conservare a materiilor prime și a medicamentelor trebuie să fie riguroase pentru a evita înmulțirea (metabolismul) bacteriilor și ciupercilor eventual existente: temperaturi scăzute, uscăciune, ambalaje etanșe etc.

6. ANIMALELE CA SURSĂ DE CONTAMINARE

Semnalăm doar că aproximativ 160 de infecții, zoonoze, dintre care peste 80 majore, pot fi transmise omului de la animale bolnave sau purtătoare sănătoase; peste 40 de infecții și parazitoze pot fi transmise de cîine. Posibilități de transmitere a infecțiilor de origine animală: contact direct, prin aer, insecte, apă, alimente de origine animală, vegetale poluate de animale etc.

Această sursă de infecții comportă o metodologie complexă de măsuri igienice de prevenire ce se referă în aceeași măsură la animalele decorative de apartament (inclusiv păsări), de curte, la animale domestice în general, la rozătoare, animale sălbatice și vectori; un rol important revine insecticidelor-pesticidelor.

7. FLORA NORMALĂ A CORPULUI UMAN

Tegumentele și parte din mucoasele care căptușesc cavitățile naturale ale organismului sînt constant populate cu m. care alcătuiesc ceea ce numim *flora normală rezidentă și flotantă.* Orice m. poate ajunge pe învelișurile corpului, dar supraviețuiesc numai acelea care găsesc condiții de dezvoltare și care, neagresive sau puțin agresive, nu-și desființează gazda.

---

* Sterilizarea în ambalaj etanș, în acest caz, sterilizare după închiderea ermetică a fiolelor, flacoanelor.

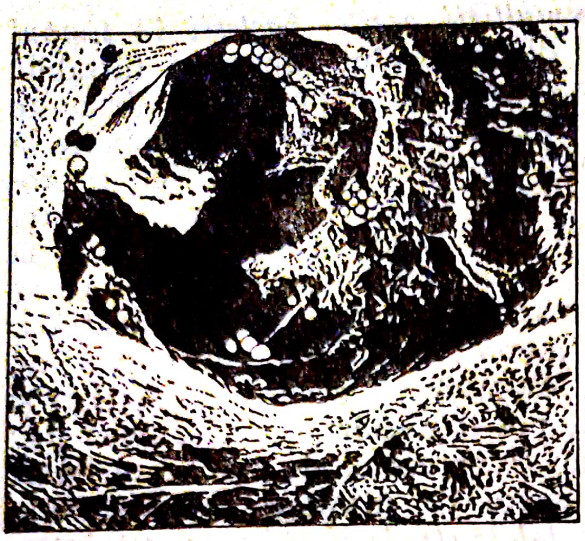


Fig. 30 : „Caverna fantastică din figură este un simplu por al pielii mărit de 2400 ori ... Micile bile sînt stafilococi ... unul din cei mai frecvenți microbi ; există circa 300/cm²" („Paris Match", 1970).

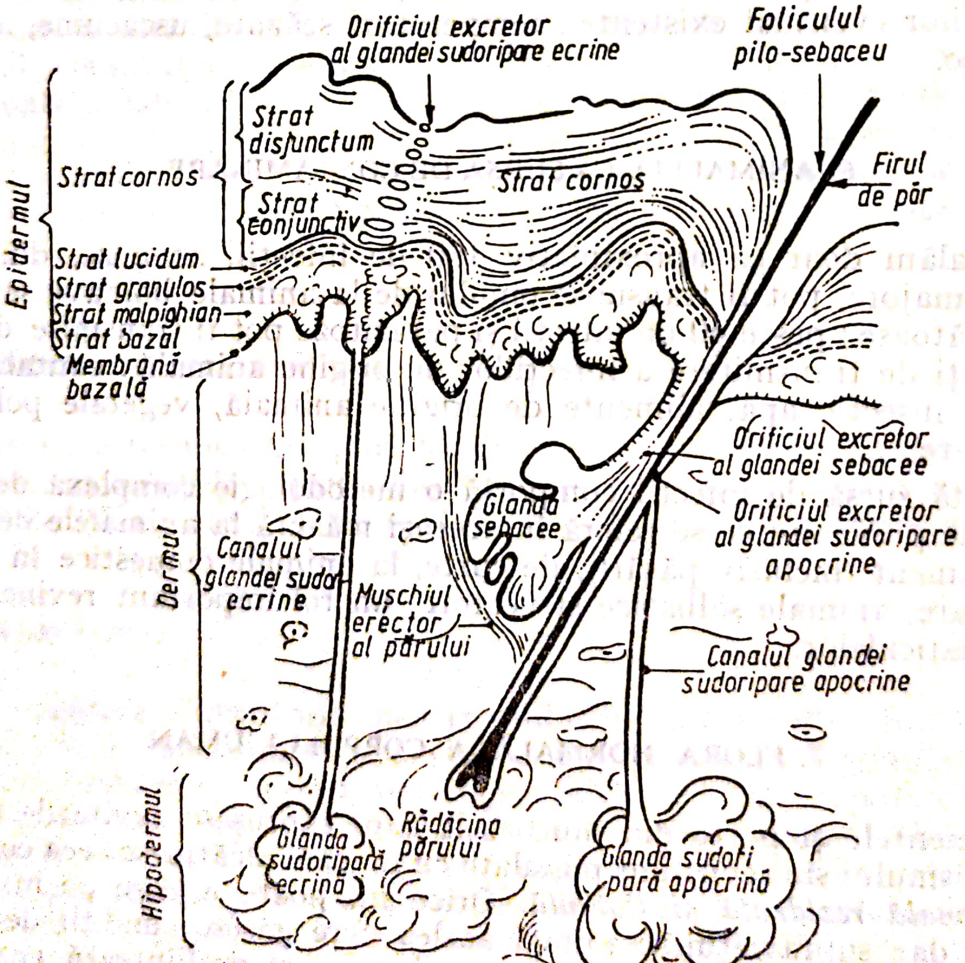

Orificiul excretor al glandei sudoripare ecrine
Foliculul pilo-sebaceu
Strat disjunctum
Strat cornos
Strat conjunctiv
Strat cornos
Firul de păr
Epidermul
Strat lucidum
Strat granulos
Strat malpighian
Strat bazal
Membrană bazală
Orificiul excretor al glandei sebacee
Glanda sebacee
Orificiul excretor al glandei sudoripare apocrine
Dermul
Canalul glandei sudor ecrine
Mușchiul erector al părului
Canalul glandei sudoripare apocrine
Hipodermul
Glanda sudoripară ecrină
Rădăcina părului
Glanda sudoripară apocrină

Fig 31 : Secțiune prin piele : *Staph. epidermidis* populează profund foliculii piloși.

Flora rezidentă — normală

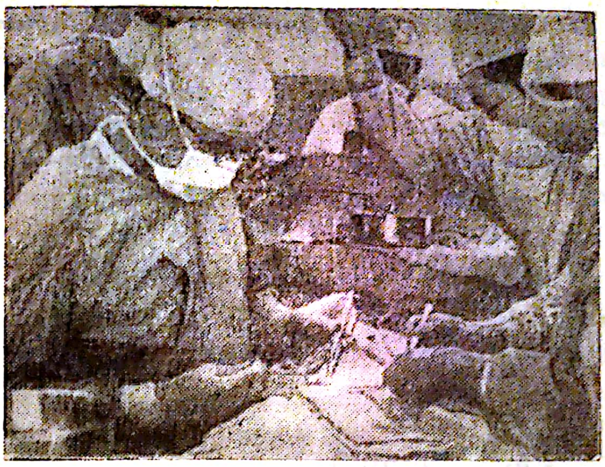


Fig. 32: În sala de operație masca trebuie să acopere și gura și nasul („Das Medizinische Prisma", 5/1973).

De-a lungul existenței speciei om, s-au selectat bacterii perfect adaptate la dezvoltarea în condițiile chimice și fizice oferite de fiecare regiune a tegumentului și de mucoase; ele alcătuiesc *flora rezidentă*.

Popularea învelișurilor începe la naștere, odată cu trecerea fătului prin filiera genitală maternă, odată cu primul inspir, supt, sărut, prima baie etc., și persistă toată viața individului; flora ca și relația de toleranță se transmit filogenetic.

Flora rezidentă este alcătuită din specii *saprofite*, care trăiesc în depozitele de materie organică din colon, spații interdentare, carii, subunghial, interdigital . . . (capabile să trăiască și în mediul extern) și din specii *comensale* dependente de anumiți factori de creștere oferiți de celulele epiteliilor (incapabile să se dezvolte în mediul extern) se dezvoltă pe mucoase.

Aceste bacterii sînt puțin influențate de acțiunea mecanică a spălatului, de antiseptice, deoarece ele populează profund porii (fig. 30) foliculilor piloși, ai glandelor sebacee, sudoripare, spațiile interdentare; nici o baie și nici un periaj nu poate să le îndepărteze total (fig. 31). *De aceea, chirurgul poartă mănușa de cauciuc impermeabilă, mască acoperind gura și nasul și îmbrăcăminte, sterile* (fig. 32).

(i) *În condiții normale de sănătate și de igienă*, speciile rezidente sînt incapabile să inițieze infecții; ajunse accidental în țesuturi și umori, ori nu găsesc condiții de înmulțire *(Lactobacillus acidophilus)*, ori sînt ușor lichidate de fagocite și de factorii umorali ai apărării interne *(Streptococcus viridans)*.

Între gazdă și flora sa rezidentă s-au stabilit și unele *relații de simbioză*:

datorită idealei adaptări la dezvoltarea pe tegumente și mucoase, flora rezidentă împiedică colonizarea acestora cu alte specii mai agresive, antagonism de care profită gazda (cap. VIII A);

această floră constituie de asemenea multitudinea de stimuli antigenici care contribuie la maturarea sistemului celular imuno-competent;

în intestin, flora rezidentă participă la procesul de descompunere a bolului alimentar, elaborează vitamine (biotina, riboflavina, piridoxina etc.); flora colibacilară sintetizează vitamina K necesară formării protrombinei în ficat . . . . . .

(ii) *Pătrunse accidental în organismul cu anumite suferințe, bolnav*, unele bacterii rezidente pot găsi condiții speciale — leziuni — care le permit colonizarea, punîndu-le totodată la adăpost de factorii apărării, devenind în acest mod infectante.

Un astfel de exemplu este streptococul *viridans*, comensal normal al mucoasei bucale și faringiene care, ajuns în sînge ca urmare a unei extracții dentare, de exemplu, se poate fixa și înmulți în depozitele de fibrină de pe valvulele lezate ale bolnavului cu cardită reumatismală determinînd *endocardita bacteriană subacută*. Endocardul și endoteliile vasculare lezate, traumatizate (cateterisme, intervenții chirurgicale) permit fixarea și a altor rezidenți ca *Staph. epidermidis*, corynebacterii. *Escherichia coli*, rezident normal al colonului, ajuns în vezica urinară de stază poate iniția cistite etc.

(iii) *Orice dezechilibru calitativ și cantitativ în sînul florei rezidente* din intestin, generat de regimuri alimentare vicioase, poate determina sindroame patologice care reclamă restabilirea florei rezidente normale.

Flora flotantă

Flora flotantă (temporară sau tranzitorie) este reprezentată de specii colectate din mediul extern și anturajul viu; timpul lor de persistență este redus (zile, săptămîni, luni); mai puțin adaptate la condițiile de pe mucoase și tegumente, persistă pe păr în densități uneori fabuloase; în condiții de sănătate aceste specii nu reușesc să se supraînmulțească, prezența lor este nemanifestă. Uneori ajung pe învelișuri și specii *condiționat patogene*, oportuniste, care nu depășesc singure învelișurile normale dar, favorizate de anumite condiții, pot să ajungă în țesuturi, sau umori:

(i) *Leziuni ale învelișurilor, permit pătrunderea directă* a bacteriilor în țesuturi și umori (plăgi traumatice, chirurgicale, arsuri, mucoase lezate de infecții virale, paralizate funcțional de substanțe toxice, alcool, frig, fumat excesiv) unde se înmulțesc generînd infecția plăgilor, bronșite, bronhopneumonii, cistite etc.

(ii) *Alterarea florei rezidente prin folosirea antibioticelor cu spectru larg pe cale orală:* antibioticele omoară flora rezidentă sensibilă; dacă în intestin există un condiționat patogen rezistent la acel antibiotic, acesta se va înmulți excesiv, ceea ce este uneori suficient pentru apariția enteritei acute stafilococice, de exemplu; același mecanism generează bronhopneumonii.

(iii) *Supraînmulțirea* poate avea loc și prin astuparea porilor cu sebum, fie ca urmare a hipersecreției, fie a necurățeniei, ceea ce împiedică drenarea lor normală și generează foliculite, hidrosadenite, acnee pustuloasă etc.

Aspectul grav al acestor posibilități constă în faptul că în spitale se întrunesc toate condițiile favorabile selectării de condiționat patogeni foarte agresivi* (plăgi, organisme vulnerabile, folosire intensivă de antibiotice).

Fenomenul are un aspect mai grav în maternități, secții de prematuri și sugari. Acestea sînt organismele cele mai vulnerabile, pe de o parte pentru că sistemul imunologic de apărare antiinfecțioasă nu este maturizat și, pe de altă parte, pentru că învelișurile nu sînt încă complet colonizate cu specii rezidente; colonizarea acestor mari vulnerabili cu specii condiționat patogene, selectate, in spitale, poate determina dezastre: piodermite care ajung la septicemii, enterite și bronhopneumonii supraacute.

Una din cele mai importante acțiuni de prevenire a acestor grave infecții, și totodată numai primul pas în acest domeniu, *este separarea maternităților (în care se internează femei sănătoase pentru a naște), a secțiilor de nou născuți și prematuri, de spitalele în care sînt internate femei cu infecții genitale (spitale de ginecologie)***.

---

* Mecanismele care duc la această selectare, în cap. X.

** Spitalele mixte de Obstetrică și Ginecologie reprezintă o abatere de la normele de profilaxie a infecției la nou-născut.

Organisme germ-free. O floră normală este caracteristică fiecărei specii animale. Cu ajutorul unor metode de asepsie bine puse la punct, este posibilă scoaterea prin cezariană a fetușilor în condiții de sterilitate microbiologică și creșterea în mediu lipsit de m. *(germ-free)* (fig. 33); ele permit experiențe privind rolul florei normale în creșterea și dezvoltarea animalului, modul in care aceasta influențează rezistența la infecțiile cu bacterii patogene, studiul patogeniei diferitelor boli. S-a constatat, de exemplu, că astfel de animale sînt foarte rezistente la injecții de „endotoxină" și foarte sensibile la infecții, că nu fac carii, că organele lor limfoide sînt insuficient dezvoltate.

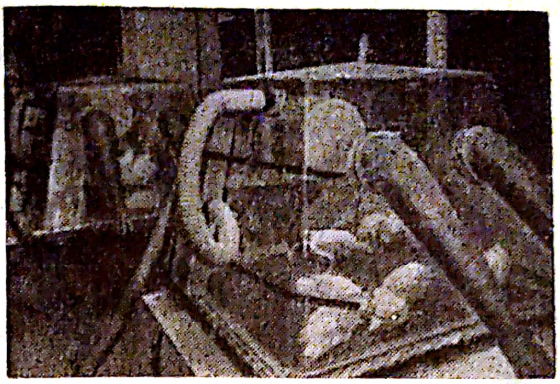


Fig. 33: Instalație pentru creșterea animalelor *germ-free*.

Mediul steril nu este lipsit, însă, de antigene bacteriene. Acestea sînt prezente și în aerul steril, dar mai ales în alimentele sterilizate (ca „endotoxine", corpi microbieni omorîți). De aceea, se încearcă creșterea de animale *„antigen-free"*, necesare, mai ales, studiilor de imunogeneză.

Astfel de realizări ale medicinei experimentale au sugerat aplicații de mare eficiență în spitale și farmacii; adoptate și adaptate în chirurgie, ele au dus la realizări ca:

izolatorul steril individual folosit pentru protecția marilor vulnerabili (bolnavi supuși tratamentelor imunodepresive intensive, cu arsuri mari, cu intervenții cardio-vasculare) extrem de susceptibili la orice agresiune microbiană (fig. 34 și 35);

scafandrul steril, care tinde să înlocuiască îmbrăcămintea sterilă clasică a chirurgului (fig. 36);

sala de operație sterilă începe să fie construită pentru chirurgia cardiovasculară, intervenții cu mare risc pentru operat, privind contaminarea exogenă.

Colaborarea obstetrică-microbiologie a dus la realizări ca:

metodologia nașterii sterile în maternitate;

*metodologia creșterii copiilor axenici** (prin suprimarea contactului cu microbi) ceea ce permite supraviețuirea anumitor categorii de vulnerabili, imaturi, deficienți imunitari congenitali etc. pînă la cîștigarea posibilităților proprii de apărare antiinfecțioasă (fig. 37);

decontaminarea profilactică a născuților pe cale naturală;

colonizarea dirijată a vestibulului nazal și tegumentelor nou-născuților cu floră controlată, pentru stabilirea unei flore rezidente neagresive.

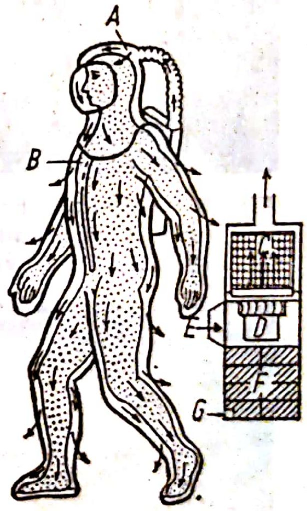


Fig. 34: Combinezonul steril ambulator, izolant antimicrobian. (După *Poplack, Penland* și *Levine*, 1974).

A: intrarea aerului filtrat: *B*: fermoar; *C*: filtru; *D*: motorul filtrului; *E*: rezervă de aer filtrat în caz de necesitate; *F*: baterie; *G*: priză pentru atașarea bateriei. Pelicula oprește intrarea particulelor sub 0,3 µm; poate fi autoclavat.

---

* Axenic, în acest caz, necontaminat.

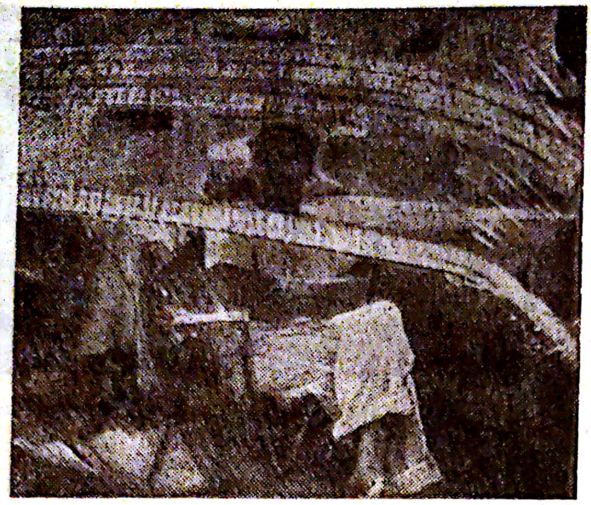


Fig. 35: Cort individual aseptic pentru bolnavi tratați cu medicamente imunodepresive. (*Santé du Monde*, ianuarie 1971).

Fig. 36: Tehnicile bazate pe animale aseptice au fost rapid adoptate în practica de spital. (*Santé du Monde*, 1971).

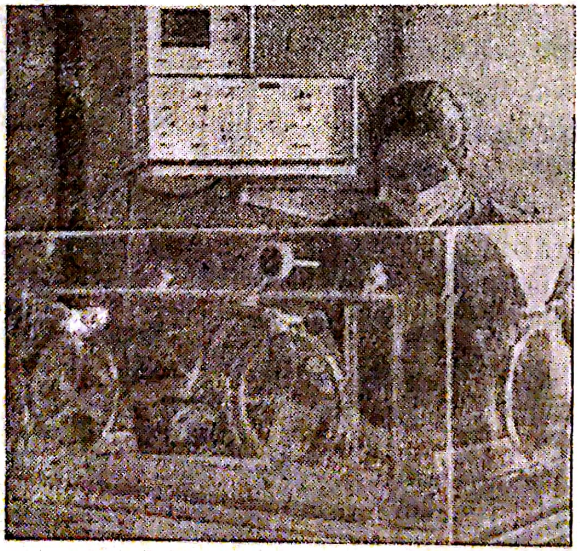


Fig. 37: Metodologie aplicată în creșterea sugarilor, organisme vulnerabile.

Distribuția florei normale a corpului uman

(i) **Flora normală a pielii** (fig. 30).

Cîteva specii rezidente populează mai ales porii foliculilor piloși și glandelor sudoripare (fig. 31), este o floră adaptată la condiții speciale de *p*H (5—6), temp., umezeală. Prezintă caracteristici regionale *cantitative* (în pliurile umede ale pielii numărul de bacterii este mai mare, 400 000 — 2 400 000/cm^2 în axilă, decît în regiunile uscate, 4 400/cm^2 pe torace) și *calitative* (flora regiunii perineale este dominată de specii fecale, *E. coli*; perioral domină specii prezente în orofarinx).

Foliculii piloși sînt constant colonizați, la 100% din indivizi, de *Staph. epidermidis* (predomină în glandele sudoripare) și de *Propionibacterium acnes* (populează mai ales glandele sebacee).

Specia temporară mai adesea întîlnită este *S. aureus* însămînțată pe propria piele de purtătorii nazali; alte specii temporar prezente reflectă floră nazală și fecală prezentă la anturaj.

Însămînțarea profundă în foliculi a acestor bacterii face ca *obținerea sterilității preoperatorii a tegumentelor* să fie încă o problemă; soluția de iod în alcool 70%, ca și clorhexidina în aceeași soluție, îndepărtează aproximativ 95% și respectiv 87% din bacteriile ușor accesibile de pe piele și maximum 80% din cele profunde; ele vor repopula rapid tegumentul după dispariția acțiunii antisepticului (fig. 38).

(ii) **Flora normală a tractusului respirator** (TR).

Tractusul respirator superior (TRS), vestibul nazal, nazofaringe *(cavum)*, orofaringe, laringe supe-

Fig. 38 : Aceleaşi măsuri de evitare a contaminării pe care le ia chirurgul în sala de operaţie sînt obligatorii şi în laboratoare de cercetare şi producţie :

„Les techniques modernes de l'immunologie et de l'éxperimentation" *(Lab. de Virologie, Inst. Mérieux, Lyon).*

rior, împreună cu *cavităţile anexă*, oto-mastoidiane, sinusale şi loje amigdaliene, formează o unitate anatomică căptuşită cu epiteliu cilindric ciliar.

Cavităţile anexă (otomastoidiene, sinusale) sînt normal sterile ; nazo- şi orofaringele sînt populate cu o floră foarte variată.

Vestibulul nazal este populat cu *Staph. epidermidis* ; în ultimul timp însă, la personal de spital, cît şi la bolnavi, acest rezident normal este mereu înlocuit (uneori în procente care ating 100) de *Staph. aureus*, condiţionat patogen uneori foarte periculos ; în colectivităţi extraspitaliceşti acest portaj este mult mai redus (tabel 12).

Colonizarea dirijată. Alarma dată de această situaţie în maternităţi a declanşat studii care deschid perspective de prevenire a infecţiilor de spital la sugar, prin *interferare bacteriană* : popularea vestibulului nazal la naştere cu o tulpină de stafilococ demonstrat avirulentă, *S. epidermidis*, care să interfereze colonizarea cu tulpini periculoase.

Alte aplicaţii ale acestei interferenţe bacteriene sînt în perspectivă pentru prevenirea infecţiilor la adult (sterilizare prealabilă prin antibiotice, urmată de repopulare cu tulpină avirulentă).

Tabelul 11

Flora normală a pielii *

Floră rezidentă	*Staphylococcus epidermidis* (++++) *Propionibacterium acnes* (++) ; *Corynebacterium xerosis* *Streptococcus viridans, faecalis* (+) *Peptostreptococcus* (+) *Lactobacillus* spp (++) *Mycobacterium* spp (±)
Floră flotantă	*Staphylococcus aureus* (dispar în cîteva zile) *Escherichia coli* (dispar în cîteva ore) *Klebsiella pneumoniae* (dispar în cîteva ore) *Proteus vulgaris* (dispar în cîteva ore) *Pseudomonas aeruginosa* *Bacillus cereus* şi alte specii *Candida* spp Numeroase alte specii.

* Aceleaşi specii caracterizează flora cavităţii auriculare.

Flora normală a *faringelui* este dominată de prezenţa a diferite specii de *streptococi viridans*, prezenţă care certifică starea ecologică normală a acestuia.

Tractusul respirator inferior (TRI) trahee, bronşii, pulmoni : în trahee şi bronşii mai există floră, dar tot mai redusă ; pulmonul este practic steril.

Tabelul 12

Flora rezidentă și flotantă* a mucoasei tractusului respirator superior; aspecte cantitative

Specii		gură	faringe	nas
	Streptococi *viridans*	++++	++++	+
Unele specii accidental patogene	*Staph. epidermidis*	++++	±	++++
	Lactobacillus spp.	++	+	+
	Neisseria „nepretențioase”	+	±	±
	Corynebacterium spp.	+		+
	Micrococcus	±	±	±
	Vibrio spp.	±		
	Acinetobacter		±	±
	Veillonella spp.	+	±	±
	Treponema spp.	±	±	
	Branhamella	±		
	Peptococcaceae	++++	++	
	Actinomyces spp.	±	±	
	Leptotrichia buccalis	±		
	Entamoeba gingivalis	±		
	Trichomonas tenax	±		
Condiționat patogeni	*Enterobacteriaceae* *	±	±	
	Myc. pneumoniae	±	±	±
	S. pneumoniae	±	±	±
	H. influenzae	±	±	±
	Staph. aureus	±	±	±
	S. faecalis **	±	±	±
	Candida albicans	+	±	
	Moraxella		±	±
	Bacteroidaceae	+	++	±
Înalt patogeni	*C. diphteriae*	±	+	±
	N. meningitidis	±	+	±
	Str. pyogenes (A)	±	+	+

---

* Numărul acestor bacterii este cu atît mai mare cu cît igiena gurii este mai neglijată.

În cursul tratamentelor cu antibiotice antibacteriene cu spectru larg se selectează adesea levuri (*Candida albicans*) și uneori fungi filamentoși; se selectează de asemenea bacteriile rezistente la antibioticul folosit, inclusiv stafilococi și bacili gram-negativ purtători de fR (*Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*), multirezistenți la antibiotice.

** Mai ales la sugari, copii și la adulți tratați cu antibiotice (sugerează contaminare fecal-orală).

Conjunctiva are o floră redusă, alcătuită mai ales din stafilococi albi, difteroizi, mai rar hemofili, stafilococi aurii, streptococi nehemolitici, pneumococi (tabel 12).

(iii) Flora normală a tractusului digestiv.

„*Așadar o menajerie în gura omului*” (*Leeuwenhoek*, sec. XVII). Încă din primele 12—24 ore după naștere, speciile care populează *mucoasa bucală* sînt streptococii *viridans* (facultativ anaerobi) care vor domina toată viața, urmați îndeaproape de *Bifidobacterium bifidum* și *Lactobacillus acidophilus* (microaerofili), de bacili gram-negativ din familia *Bacteroidaceae* și spirochete (anaerobi).

Studiul florei din gură și în special al florei complexe, dominant facultativ-anaerobă și anaerobă, ce se înmulțește în șanțul gingivo-dentar, sau *„placa dentară", reprezintă o problemă de care sînt legate sindroamele cu cea mai mare incidență în patologia umană, caria dentară și parodontopatiile.* Înțelegerea cît mai completă a relațiilor din acest biotop particular, *dinte-placă dentară,* ar fi în măsură să reducă multă suferință (tabelul 13).

Bacteriile din gură, din alimente și din apă ajung în *stomac*; aici are loc o selecție pe care o face aciditatea gastrică (*p*H 1—2) încît *duodenul* și *jejunul superior* sînt, practic sterile, sau puțin populate ($< 10^3$/ml în jejunul superior).

Vezicula biliară este normal sterilă.

Ileum-ul distal și mai ales *colonul* reprezintă însă zona cea mai populată din organism: valorile medii apreciate prin culturi ating 5×10^9—5×10^{10} bacterii *per* gram de materii fecale; valorile apreciate microscopic sînt de două ori mai mari (10^{11}—10^{12}), iar valoarea totală în intestin este de proporții astronomice, 10^{14} microorganisme și depășește cu mult numărul total de celule care alcătuiesc corpul uman, 10^{12}. De această imensă populație a colonului, depinde în cea mai mare măsură starea de bine a organismului.

Această populație este extrem de heterogenă, alcătuită din numeroase specii de *mucegaiuri, levuri, protozoare, bacteriofagi, enterovirusuri,* dar mai

Tabelul 13

Flora normală a mucoasei tractusului digestiv

Gură	rezidenți	Streptococi *viridans*	*Streptococcus mitis* (pe mucoasa bucală)
			,, *sanguis* (în placa dentară)
			,, *salivarius* (pe limbă)
			,, *anginosus* (nasofaringe-gură)
		Lactobacillus bifidus, acidophilus (++)	
		Bacteroidaceae (+++)	
		Spirochete, *Treponema* specii *comensale*	
		Stafilococci *epidermidis* (++++)	
		Peptococcaceae (++++)	
	flotanți	*Esch. coli, Proteus, Klebsiella* spp	
		Candida albicans	
		Actinomicete	
		Staphylococcus aureus	

Stomac — duoden — jejun superior, normal sterile sau puține bacterii (10^3—10^5/g conținut);

Vezicula biliară este normal sterilă.

Ileon inferior, colon	flora rezidentă	*Bacteroidaceae* spp (++++)
		Clostridium spp (++)
		Coci anaerobi (++)
		Esch. coli, diferite tipuri antigenice
		Str. faecalis și *viridans*
		Lactobacillus spp (++++),
		Bifidobacterium spp (++++)
		Actinomicetes spp
	flotantă	Stafilococci aurii
		Candida albicans
		Esch. coli tipuri enteropatogene
		Proteus morgani, rettgeri etc.
		Alte enterobacterii.

ales bacterii : la copil este dominată de *facultativ anaerobi (Escherichia coli, Streptococcus faecalis* şi *bovis)* şi de *microaerofili (Bifidobacterium bifidum* care predomină la sugarul hrănit la sîn, *Lactobacillus acidophilus* care predomină la sugarul hrănit artificial), urmaţi de *anaerobi (Bacteroidaceae* şi *Clostridium)* ; anaerobii devin floră dominantă la adult ; (aproximativ 500 specii înregistrate în total).

Această imensă microfloră realizează cel mai adesea în organismul gazdă un echilibru ecologic normal ; acest echilibru este supus la variaţii în raport de alimentaţie, vîrstă, medicaţii* .

Pe de altă parte, în tot mai multe sindroame digestive, malabsorbţii şi dereglări metabolice, este recunoscută influenţa decisivă a modificărilor de microfloră a colonului ; perspectivele terapeutice depind de gradul de cunoaştere a acestui ecosistem, *organism - flora intestinală.* Această cunoaştere începe cu studiul fiziologiei umane şi bacteriene în interdependenţă (tabel 13).

(iv) Flora normală a mucoasei genitale la femeie

Mucoasa *tractus*-ului genital superior (uter, trompe) este normal sterilă; endocolul este o zonă de trecere, *tractus*-ul genital inferior (vaginul) fiind populat de o floră bogată.

Caracteristică este flora vaginală a femeiei în perioada reproductivă (de la pubertate pînă la menopauză) cînd, în celulele mucoase ale epiteliului vaginal, cantitatea de glicogen depusă sub influenţa progesteronului este mare. Glicogenul favorizează dezvoltarea lactobacililor (diferite specii denu-

Tabelul 14

Flora normală a tractusului genital la femeie

Mucoasa vaginală	Floră rezidentă (de la pubertate pînă la menopauză)	*Lactobacillus acidophilus* (b. Döderlein) * (++++)
		Streptococi *viridans*, anaerobi (+++)
		Bifidobacterium bifidum (++)
	Floră flotantă **	streptococi β-hemolitici serogrup A, B
		stafilococi coagulazo-negativ şi pozitiv
		diplococi aerobi şi anaerobi
		Candida albicans
		spirochete (spp. *Treponema*)
		mycoplasme
		Corynebacterium spp
		Mycobacterium spp
		Esch. coli
		Clostridium spp
		Listeria
		Trichomonas vaginalis

Uter şi anexe : normal sterile

* După menopauză, lactobacilii scad numeric în vagin, flora devine mai variată.
** Dominantă pe organele genitale externe şi în vagin pînă la pubertate şi după menopauză.

---

* Necesitatea menţinerii acestui echilibru începe să se reflecte deja în adoptarea unui mai raţional mod de administrare a antibioticelor cu spectru larg, recomandat de unele laboratoare de medicamente : „*Lactotetracyclina*", 250 milioane de bacili lactici vii tetraciclinorezistenţi într-un săculeţ sau comprimat, „pentru o tetraciclinoterapie fără probleme".

mite generic bacili Döderlein), care îl metabolizează pînă la acid lactic menţinînd *p*H-ul vaginal acid, 4,4 — 4,6, nefavorabil înmulţirii speciilor patogene.

Pînă la pubertate şi după menopauză, flora vaginală este mixtă, similară florei vulvare.

Flora vulvară, abundentă, conţine specii caracteristice tegumentelor, florei fecale şi vaginale.

Tabelul 15

Flora normală a tractusului urinar

Uretra anterioară : specii care reflectă flora perianală	
Uretra posterioară Vezica urinară Uretere Bazinete Rinichi	normal sterile

(v) Flora normală a tractusului urinar

Exceptînd uretra anterioară, tractusul urinar este normal steril (tabel 15; v. cap. XIII, A).

BIBLIOGRAFIE

1. BORDERON J. C., BORDERON E., CHABBERT Y. A.: Étude quantitative de la colonisation par entérobactéries multirésistantes des enfants prématurés. *Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur)*, *125B*, 45—57, 1974.
2. CADA R. L.: Proficiency test specimens for water bacteriology. *Appl. Microbiol.*, *29*, 2, p. 255, 1975.
3. ELLIS H. M., GILBERTSON W. E., JAAG O., OKUN D. A., SHUVAL H. I., SUMNER J.; *Problems in community wastes management*. Geneva. Publ. Hlth. Pap., 38, 1969.
4. GLEE J. et all.: Autoflora in the upper respiratory tract of Apollo astronauts. *Appl. Microbiol.*, *32*, 5, 659—665, 1976.
5. GORDON H. A., PESTI L.: The gnotobiotic animal as a tool in the study of host microbial relationships. *Bact. Rev.*, *35*, 4, 390—429, 1971.
6. HALSTEAD B., HALSTEAD L.: The sea, danger signals for man. morld Health, May 1972.
7. HOUR C. E., LECLERC H.: Dénombrement des actinomycétes aérobes de l'eau. *Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur)*, *124B*, 533—546, 1973.
8. JACOB F.: *La logique du vivant*. Ed. Gallimard, 1970.
9. KAPLAN M.: Environmental hazards. WHO, May 1972.
10. KLOOS W. E., MUSSEL WHITE S. M.: Distribution and persistence of *Staphylococcus* and *Micrococcus* species and other aerobic bacteria on human skin. *Appl. Microbiol.*, 30, p. 381, 1976.
11. MACBETH W. A. A., KASS E. H., DERMOTT W. V.: Treatement of hepatic encephalopathy by alteration of intestinal flora with *Lactobacilus acidophilus*. *Lancet*, *1*, 7382, p. 399, 1965.
12. MAIBACH H. I., HILDICH-SMITH G.: *Skin bacteria and their role in infection*. Mc Graw-Hill Boo Comp., NY—Sydney—Toronto, 1965.
13. MOTOC D.: *Microbiologia produselor alimentare*. Ed. tehnică, Bucureşti, 1964.
14. NOAH N. D.: The bacteriologist in the supermarket. *Health magazine*, 10, 3, 42—45, 1973.
15. PAVANELLO R.: Something in the air. W HO, May 1972.

16. RAIBAUD D. P., DUCLUZEAU R., MOCQUOT G., GHNASSIA J. C., GRISCELLIC., LAUVERGEON B.: Données récentes sur la flore microbienne du tube digestif chez l'homme et les animaux monogastriques. *Rev. franç. Gynéc., 70,* 10, 541—547, 1975.
17. RAJAGOPALAN S., SHIFFMAN M. A.: *Mesures d'hygiène simples contre les maladies intenstinales.* OMS Genève, 1975.
18. VOSS J. G.: Effects of an antibacterial soaps on ecology of aerobic bacterial flora of human skin. *Appl. Microbiol., 30,* 4, 551—556, 1975.
19. * * *: *Germ-free animals.* Symposia held at the VII international Congress for Microbiology, Stockholm, Blackwell Sci. Publ., Oxford, 1958.
20. * * *: The management of community wastes. *WHO Chronicle, 24,* 5, 206—215, 1970.
21. * * *: Reduction, traitement et élimination des déchets solides. Rapport d'un Comité d'experts de l'OMS. *Sér. Rapp. techn.,* 484, 1971.
22. * * *: Approvisionements publics en eau: Méthodes de collecte et présentation des données. Rapport d'un groupe scientifique de l'OMS. *Sér. Rapp. techn.,* 490, 1972.
23. * * *: Pollution and health. WHO May 1972.
24. * * *: From animal to man. 25 facts about zoonoses. *Features,* 4, 1973.
25. * * *: Evacuation des eaux usées des collectivités: Rapport d'un Comité d'experts de l'OMS, Genève, *Sér. Rapp. techn.,* 541, 1974.
26. * * *: Fish and shellfish hygiene. WHO Chronicle, 29, 55—60, 1975.

VI. ACŢIUNEA AGENŢILOR FIZICI ASUPRA MICROORGANISMELOR

Viaţa m. este dependentă şi permanent influenţată de complexul factorilor *chimici*, *fizici* şi *biologici* care alcătuiesc mediul ambiant. Studiul acţiunii acestor agenţi asupra m. a determinat deducerea şi elaborarea majorităţii metodelor nespecifice şi a produselor de care dispune azi medicina pentru prevenirea şi terapia infecţiilor (bolile cele mai frecvente din patologia umană şi animală):

— metode de sterilizare,
— metodologia lucrului aseptic,
— dezinfecţie, antisepsie, sanitizare,
— chimioterapie,
— antibioticoterapie.

Orice schimbare de intensitate a factorilor fizici, de concentraţie a celor chimici, ca şi intervenţia de noi factori biologici modifică echilibre şi microbii sufăr; suferinţa se traduce prin:

moartea microbului, ca urmare a acţiunii unui factor microbicid (bactericid, virulicid, fungicid, sporicid);

trecerea în formă de viaţă latentă, încetinirea sau oprirea reversibilă a multiplicării, în care caz, agentul activ este numit microbistatic (bacteriostatic, virostatic); microorganismul îşi reia metabolismul odată cu dispariţia agentului inductor;

modificarea microorganismului, explicată, fie prin selectarea mutantelor rezistente la factorul activ şi înmulţirea în noile condiţii, fie prin *apariţia de mutante* (v. cap. Genetică).

Determinarea unuia sau altuia dintre aceste efecte depinde de (i) caracteristici ale factorului activ, intensitatea sau concentraţia lui, (ii) structura microbului supus acţiunii, (iii) natura mediului în care are loc acţiunea şi (iv) timpul de acţiune.

Mai mult, indivizii aceleiaşi populaţii microbiene pot demonstra vitalităţi diferite: de exemplu, oricare ar fi factorul activ şi timpul de expunere necesar sterilizării, indivizii aparţinînd aceleiaşi populaţii microbiene — tulpină — nu mor concomitent, ceea ce depinde de faza de creştere; bacteriile în perioada de metabolism foarte activ (faza logaritmică) sînt mai sensibile decît cele în faza latentă; numărul celor omorîte la un moment dat fiind cu atît mai mare cu cît timpul se apropie de durata maximă necesară sterilizării.

Variaţiile de rezistenţă care ţin de specie, depind mai ales de structura învelişurilor celulare, de forma ei de existenţă: mycobacteriile, cu perete mai bogat în lipide, sînt mai rezistente la uscăciune decît formele vegetative ale altor bacterii; sporul este mult mai rezistent decît forma vegetativă.

Cînd factorul activ acţionează direct şi nemijlocit asupra peretelui celular, influenţa lui este maximă, în timp ce acţiunea aceluiaşi factor asupra unui microb înglobat în substanţe organice complexe (produse patologice, alimente, medii de cultură) este mult mai redusă; materiile organice (lipidele, proteinele) acţionează ca învelişuri protectoare sau ca adsorbanţi ai factorilor activi. De exemplu, microorganisme aflate în suspensie în apă vor fi mai rapid distruse decît aceleaşi specii aflate în spută, în materii fecale, în puroi, în sînge; pentru acelaşi efect, concentraţia factorului chimic sau intensitatea celui fizic trebuie să fie mai mare, sau timpul de acţiune mai lung.

A. CĂLDURA

Temperaturile ridicate sînt nocive, omoară atît formele vegetative cît şi sporii; căldura este factorul cel mai folosit în procedee de _decontaminare_* şi _sterilizare_**, fiind singurul factor care dă certitudinea eficienţei. Ca principiu, _sterilizarea prin căldură este folosită ori de cîte ori materialul de sterilizat suportă_*** _temperaturile de sterilizare_. Mai mult, procedeele de sterilizare prin căldură sînt foarte accesibile (un vas cu apă, un cuptor) şi adaptabile în raport de natura produselor de sterilizat: produse rezistente la temperaturi (temp.) înalte pot fi sterilizate în interval scurt, iar produse care nu suportă temp. prea ridicate pot fi sterilizate prin prelungirea timpului de expunere (tabel 16) sau repetarea încălzirilor (sterilizare fracţionată).

Efectul letal al căldurii este condiţionat de umiditate, specia şi forma de viaţă a bacteriei, timpul de acţiune şi intensitatea căldurii, natura mediului în care sînt suspendate microorganismele.

Pentru toate aceste considerente, ca datele privind sensibilitatea speciilor la căldură să poată fi comparate, se folosesc doi indici:

punctul termic mortal (p. t. m.) reprezentat de cea mai scăzută temp. care omoară în 10 min. toţi indivizii unei populaţii microbiene în condiţii standard: 1–2 ml suspensie, cu concentraţie 50 000 microbi/ml, în tampon fosfat _pH_ 7, în tuburi de sticlă ermetic închise (pentru sterilizarea prin căldură umedă);

timpul termic mortal (t. t. m.), cel mai scurt interval necesar pentru ca toţi indivizii unei populaţii microbiene să fie omorîţi la o temp. dată (condiţionată de rezistenţa la căldură a produsului de sterilizat, medicamente, antibiotice etc.).

În astfel de condiţii, p. t. m. la căldură umedă pentru _Escherichia coli_ este 55°C, iar pentru bacilul Koch este 60°C.

Determinarea t. t. m. la temperaturi minime de omorîre a formelor vegetative prin căldură umedă are importante aplicaţii practice: (a) reprezintă temp. şi intervale folosite la prepararea vaccinurilor şi autovaccinurilor inactivate (încălzire cît mai redusă pentru ca alterările structurii antigenice să fie cît mai mici); (b) folosirea lor permite separarea formelor sporulate din produse cu floră mixtă, cu aplicare în metodele de izolare a bacteriilor sporulate (diagnostic).

---

* Decontaminare, omorîrea microorganismelor patogene.
** Sterilizare, omorîrea tuturor microorganismelor.
*** Fără a se altera.

Căldura umedă

Căldura umedă este mai nocivă decît cea uscată, la aceeași temp. omoară mai repede; este mai penetrantă și acționează prin coagularea proteinelor-enzime și modificarea lipidelor din membrană, stări incompatibile cu viața.

Formele vegetative. În general, este suficient ca temp. maximă de dezvoltare a speciei să fie depășită cu 10—15°C pentru ca forma vegetativă să fie omorîtă: formele vegetative ale majorității bacteriilor, fungilor și protozoarelor, ca și majoritatea virusurilor sînt omorîte în 10 min la 50—60°C căldură umedă; există însă și m. mai rezistente: virusul poliomielitic este omorît în 30 min. la 60°C, iar *virusul hepatitei tip B este omorît abia în 10 ore la 60°C și într-un minut la 100°C, fiind luat ca etalon în fixarea parametrilor pentru metodele de decontaminare în spitale.*

Sporii de actinomicete și micete (levuri și mucegaiuri) sînt omorîți în 30 min la 80°—90°C; sporii bacterieni sînt mult mai rezistenți și cu rezistențe foarte variabile de la specie la specie și de la tulpină la tulpină, în cadrul aceleiași specii. De exemplu, dacă majoritatea sporilor de bacteridie cărbunoasă și de bacil tetanic mor în 10 min la 100°C căldură umedă, unii spori tetanici rezistă pînă la 1—3 ore, iar unii spori de bacil botulinic rezistă pînă la 8 ore la 100°C și pînă la 40 min la 115°C. Cel mai rezistent spor cunoscut este acela de *Bacillus stearothermophilus*, un saprofit, omorît abia în 20 ore la 100°C, în 23 min la 120°C și în 15—18 min la 121°C; rezistența lui este luată ca *etalon* în stabilirea parametrilor metodelor de sterilizare.

Acțiunea căldurii umede este foarte larg aplicabilă în practica **sterilizării**, prin metode de *autoclavare* și *tindalizare*, și a **decontaminării**, prin *fierbere* și *pasteurizare* (în laboratoare, spitale, farmacii, pentru produsele alimentare).

Căldura uscată

Căldura uscată omoară prin accelerarea fenomenelor de oxido-reducere, asfixie, coagulare sau carbonizare. Majoritatea formelor vegetative sînt omorîte de căldura uscată în 10 min la 60°—80°C; cel mai rezistent este tot sporul de *B. stearothermophilus*, omorît în 3 ore la 140°C, în 2 ore la 160°C și în 20 min la 180°C. Căldura uscată este folosită sub diferite forme:

Aerul cald (în cuptoare) este mai puțin penetrant decît căldura umedă fiind folosit mai ales pentru sterilizarea obiectelor compacte din sticlă, porțelan, metal (fiind și mai puțin oxidant decît căldura umedă); are aplicații în laboratoare, spitale, farmacii, bucătării, restaurante, cantine etc. Aerul cald este folosit și pentru sterilizarea unor produse farmaceutice care nu pot fi sterilizate prin căldură umedă, ca pulberi, uleiuri, grăsimi ce rezistă la temp. înalte 160—180°C. Pentru unele produse farmaceutice care nu sportă temp. atît de ridicate (penicilina, de exemplu), dar al căror proces tehnologic are loc în condițiile lucrului aseptic, se practică doar decontaminare la temp. mai scăzute, 60 min. la 120—121°C.

Trecerea prin flacără (flambarea) este eficientă pentru mici obiecte și suprafețe compacte din metal, sticlă, porțelan.

Incinerarea este folosită pentru produse organice contaminate (cadavre, pansamente, hîrtie, gunoi menajer etc.).

METODE DE STERILIZARE PRIN CĂLDURĂ

Sterilitatea*, în sensul absolut al cuvîntului, este condiție indispensabilă pentru obținerea de culturi pure, pentru marile intervenții chirurgicale, medicamente injectabile, conserve etc. Parametrii sterilizării prin căldură umedă și uscată sînt stabiliți în raport de cel mai rezistent microorganism, sporul de *B. stearothermophilus*. În tabelul 16 este prezentat, comparativ, efectul cid al căldurii umede și uscate în raport de intensitatea căldurii și timpul de acțiune asupra acestui spor, valori determinate în condiții standard: cu cît temperatura este mai ridicată, cu atît timpul necesar sterilizării este mai scurt (și invers).

Tabelul 16

Efectul sporicid al căldurii umede comparativ cu al căldurii uscate, apreciat în raport de temperatura și timpul de acțiune asupra celui mai rezistent spor, *B. stearothermophilus*

căldură umedă		căldură uscată	
Temp. °C	Timp de expunere	Temp. °C	Timp de expunere
100	20 ore		
110	$2^{1}/_{2}-2$ ore		
115 (1/2 atm)	50–80 min		
120	23 min	120	8 ore
121 (1 atm)	*10–15 min*		
130	$2^{1}/_{2}-3$ min		
134 (2 atm)	1–2 min		
		140	$2^{1}/_{2}-3$ ore
		160	1–2 ore
		180	**20 min**

(După *R. Cruickshank* și col., 1973, cu completări)

În practica sterilizărilor trebuie cunoscute temperatura și timpul de sterilizare:

— *temperatura de sterilizare* este determinată de temperatura suportată de produsul de sterilizat (metal, sticlă, bumbac, apă, medicamente, ser sanguin etc.), fără alterări fizico-chimice;

— *timpul de sterilizare* este înregistrat din momentul cînd în aparat mediul în care are loc sterilizarea (aer, vapori sub presiune sau apă) a atins temperatura de sterilizare și este o sumă a:

● timpului de egalizare necesar ca obiectele de sterilizat să atingă temperatura de sterilizare;

---

* Steril = lipsit de microorganisme vii.

- timpului de omorîre al celui mai rezistent spor la temperatura aleasă pentru sterilizare (tabel 16) şi
- timpul de siguranţă (margine de siguranţă) egal cu 1/2 din timpul de omorîre (în tabele timpul de siguranţă este inclus adesea în timpul de omorîre).

Sterilizarea prin aer cald: înregistrarea timpului de sterilizare începe din momentul în care aerul din cuptor a atins temp. de sterilizare (180°C). Acest moment nu corespunde cu încălzirea obiectelor din cuptor la aceeaşi temperatură: *timpul de egalizare* suficient pentru obiecte din metal, sticlă, porţelan, ca şi pentru pulberi, uleiuri, grăsimi, în ambalaje în care grosimea stratului nu depăşeşte 0,60 cm, este de 30 min; la aceasta se adaugă *timpul de omorîre* a tuturor microbilor (20 min) şi *timpul de siguranţă* (10 min); *operaţia durează 60 min din momentul în care termometrul arată 180°C.*

Pentru pulberi, grăsimi, uleiuri, în ambalaje mai mari, timpul de egalizare este mai mare; el variază şi cu natura produselor, există produse care nu suportă temperaturi de 180°C. Ca urmare, *pentru fiecare produs nou trebuie determinate (a) temperatura suportată şi (b) timpul necesar de egalizare, în raport cu ambalajul,* la care se adaugă *timpul de omorîre* (tabel 16) şi *timpul de siguranţă,* pentru a stabili durata operaţiei.

Autoclavarea: timpul de sterilizare se marchează după ce a avut loc evacuarea aerului şi manometrul a atins presiunea corespunzătoare temperaturii dorite: 115°C (1/2 atm), 121°C (1 atm) sau 134°C (2 atm).

Pentru vase care nu depăşesc 1 litru lichid, timpul de egalizare la 121°C este de 7—12 min; la acesta se adaugă timpul de omorîre (10—15 min) (tabel 16) şi timpul de siguranţă (5—7 min); operaţia durează 30 minute.

Pentru casolete obişnuite de spital, timpul de egalizare este de 27 min la temperatura de 121°C şi de 1 min la 134°C; timpul de omorîre, în tabel 16; timpul de siguranţă se calculează.

Metode de decontaminare.

Fierberea. În situaţii de urgenţă pentru instrumentar folosit la intervenţii de mică chirurgie şi seringa folosită pentru injecţii (mizînd pe rezistenţa organismului), se poate folosi fierberea care realizează un înalt grad de decontaminare. Prin fierbere se urmăreşte (a) omorîrea tuturor formelor vegetative bacteriene *, (b) a majorităţii sporilor şi (c) a virusurilor hepatitei B, ceea ce se poate obţine în 10 minute (instrumentele fiind bine curăţate chimic şi mecanic**).

În utilizarea fierberii se ţine seama de posibilitatea creşterii eficienţei microbicide prin combinare cu factori chimic, acidifiere, alcalinizare, adaos de dezinfectante.

Exemple: — sporii de bacil tetanic care la 100°C şi la *p*H 7,2 mor în 20 min, la *p*H 4,1 mor în numai 11 min, (aşa se explică buna conservare a fructelor şi a medicamentelor acide printr-o scurtă încălzire la 100°C);

---

* Implicit sînt omorîţi fungii şi toate protozoarele.

** Înglobat în sînge, ser, plasmă care coagulează prin fierbere, rezistenţa virusului hepatitei B este mai mare, de aceea, pentru siguranţă, fierberea durează 30 minute.

— fierberea într-o apă cu 2% carbonat de sodiu dă în 10 min. acelaşi efect ca şi o fierbere în apă simplă timp de ore, avînd loc totodată o urcare a punctului de fierbere; metoda este folosită pentru lenjerie, pentru instrumente de mică chirurgie etc.;

— fierberea în apă la care s-a adăugat un detergent are acţiune microbicidă mult superioară; este metoda recomandată pentru sticlărie de laborator, instrumente, lenjerie, veselă, bazinete, sonde etc.

Pasteurizarea este metoda de decontaminare la temperaturi sub 100°C folosită pentru lichide care se degradează la temp. mai ridicate şi pentru care sterilizarea nu este necesară. Este metoda folosită în mod curent pentru decontaminarea* şi sanitizarea** laptelui: la alegerea timpului şi temp. de încălzire se ţine seama de (a) sensibilitatea la căldură umedă a celor mai rezistente m. patogene care ar putea fi prezente în lapte [*Coxiella burnetii* (t. t. m., 30 min. la 56°C) şi bacilul tuberculozei bovine (t. t. m., 10 min. la 60°C)], (b) de necesitatea obţinerii unei bune sanitizări şi de (c) o cît mai completă conservare a vitaminelor din lapte. Astfel de performanţe se pot atinge în 30 min. la 62°—65°C sau în 15 secunde la 72°C (cu expunere în strat foarte subţire, pe bandă) şi numai dacă se porneşte de la un lapte care a fost colectat în condiţii ideale de curăţenie (< 200 000 bacterii/ml). Pentru ca un lapte corect pasteurizat să ajungă la consumator la fel de bine sanitizat, trebuie transportat şi conservat la temp. care să împiedice înmulţirea bacteriilor remanente (+ 4°C— + 8°C), şi consumat în interval de 2—3 zile***.

În situaţia specială a sîngelui uman, inclusiv plasmă, ser şi alte derivate destinate terapiei, produse în care de regulă singurul microorganism de temut este virusul hepatitei B, totodată cel mai rezistent, sterilizarea se poate obţine prin încălzirea la 60°C timp de 10 ore.

Tindalizarea. Pentru lichide care nu suportă fierberea, o mai bună decontaminare şi chiar sterilizare se poate obţine prin (i) încălziri timp de 30—60 min. la temp. sub. 100°C. (temp. exactă de încălzire fiind dictată de natura produsului; pentru ser sangvin se folosesc 60°C, (ii) repetate trei zile succesiv, (iii) cu menţinerea în pauze la temp. camerei. Cu condiţia ca lichidul de sterilizat să fie un bun mediu de cultură (ser sanguin, sau alte medii de cultură), în pauzele dintre încălziri, sporii pot germina fiind astfel omorîţi la încălzirile următoare. Metoda nu asigură însă inactivarea virusului hepatitei B din serurile sanguine şi chiar în ce priveşte sporii, metoda este uneori îndoielnică, nu dă certitudinea sterilizării.

Dealtfel, în practica sterilizării lichidelor care nu suportă autoclavări, se foloseşte mai frecvent *filtrarea*, prin filtre care reţin bacteriile sau/şi unele virusuri.

B. FRIGUL

Temperaturile scăzute sînt mai bine suportate de microbi. La valori sub temp. minimă de creştere, metabolismul şi înmulţirea încetează, majoritatea m. trec în stare de viaţă latentă:

Refrigerarea. La frigider (+ 4°, + 10°C) majoritatea bacteriilor rezistă luni şi ani de zile, virusurile rezistă săptămîni şi chiar luni, cu condiţia evitării uscării. Stocarea în frigider reprezintă metoda de conservare pentru culturi microbiene, ca şi pentru alimente, medicamente. Excepţie fac unele bacterii adaptate la comensalism şi parazitism, care mor repede sub temp. optimă de înmulţire (meningococ, gonococ) şi bacteriile criofile (care se pot înmulţi şi alterează alimente şi medicamente nesterile, la frigider).

---

* Omorîrea bacteriilor patogene; *Brucella*, *Streptococcus*, inclusiv BK.

** Sanitizare, scăderea numărului total de microorganisme la limite considerate nepericuloase.

*** În cazul laptelui (în condiţii optime), maximum 30 000 bacterii remanente/ml.

Congelarea. *Înghețul la temp. puțin sub 0°C* are un ridicat efect microbicid; numeroase bacterii mor, probabil din cauza înghețării apei de solvire cu formarea de pungi cu soluții hiperconcentrate, toxice, și/sau ruperea învelișurilor prin cristalele de gheață astfel formate.

Îngheț-dezghețul repetat are un și mai mare efect microbicid; 4—6 înghețări și dezghețări sterilizează o suspensie bacteriană. Metoda are aplicații practice pentru obținerea de structuri subcelulare.

La temp. de congelare mult mai scăzute, — 30° — 70°C, efectul microbicid este practic anulat: vibrionul holeric omorît la — 25°C — 30°C, supraviețuiește cel puțin doi ani la — 65°C. Congelarea fiind rapidă și completă, nu are loc formare de cristale și nici hiperconcentrare de săruri.

Cu cît congelarea este mai rapidă, cu atît numărul inidivizilor care supraviețuiesc este mai mare.

Odată obținută o astfel de congelare, micile variații ale temp. de congelare influențează puțin microbii; decongelate brusc pînă la temp. optime de înmulțire și puse în medii favorabile, bacteriile își reiau metabolismul) virusurile își reiau replicarea.

Este metoda cea mai bună de conservare a tuturor alimentelor: carne, pește, fructe etc.

Metoda folosită pentru conservarea tulpinilor microbiene în laboratoare s-a extins și în chirurgie, pentru conservarea anumitor țesuturi folosite ca grefe și transplante (la adăpost de alterare microbiană).

C. USCAREA ȘI LIOFILIZAREA

Uscarea. Acțiunea uscăciunii este diferită după cum are loc asupra sporilor, sau a formelor vegetative, în condiții atmosferice naturale, sau în vid.

Sporii bacterieni, fungici și chisturile protozoarelor sînt foarte rezistenți la uscăciune. În praf uscat, la întuneric, supraviețuiesc ani de zile: spori de bacil tetanic s-au arătat viabili după 17—20 de ani; în probe de sol păstrate în fiole închise la temp. camerei au fost găsiți spori viabili după 50 de ani.

Formele vegetative bacteriene și virusurile sînt în general sensibile la uscăciune; pierderea apei prin uscare duce la concentrarea sărurilor, la denaturarea fizico-chimică a proteinelor-enzime și la moarte. Timpul de rezistență variază cu structura chimică a peretelui. Conținutul peretelui în lipide este probabil unul din factorii de care depinde rapiditatea cu care are loc pierderea apei și, astfel, rezistența la uscăciune: mycobacteriile, care conțin pînă la 60% lipide, sînt foarte rezistente la uscăciune (6—8 luni în praf la adăpost de lumină); rickettsiile și în special *Coxiella burnetii* rezistă 2—3 luni; bacilii gram-negativ (20% conținut în lipide) și bacteriile gram-pozitive (1 — 4% lipide) rezistă mai puțin, 1 — 2 săptămîni; pneumococul moare în cîteva ore, gonocoul moare imediat.

Liofilizarea. Uscarea în stare de congelare, sub vid, nu influenţează practic viabilitatea microorganismelor; acest comportament a fost folosit în elaborarea celei mai bune metode actuale de conservare a viabilităţii lor, liofilizarea.

Liofilizarea constă în congelarea bruscă a suspensiei microbiene la temp. CO_2 solid (—78°C), sau azot lichid (—180°C), urmată de uscare rapidă în vid, cu închidere ermetică. Conservarea ulterioară se poate face şi la temp. camerei, mai bine la frigider; majoritatea speciilor se conservă ani de zile, unele indefinit.

Amestecul frigorific utilizat în scopul congelării rapide se obţine din gheaţă carbonică + acetonă. Rezultate şi mai bune se obţin dacă suspensia microbiană supusă liofilizării este făcută în bulion, sau în ser sanguin, în soluţie de lactoză, glicerol.

Liofilizarea s-a extins la conservarea unor produse alimentare (drojdie de bere, pulberi de ou), medicamente.

D. ACŢIUNEA RADIAŢIILOR

Radiaţii solare *

Exceptînd bacteriile fotosintetizante, lumina solară are efect microbicid datorită conţinutului în ultraviolete (UV). Durata de insolaţie pentru obţinerea efectului microbicid depinde de conţinutul luminii în UV (intensitate dependentă de permeabilitatea atmosferei la UV), de specia microbiană şi forma ei de existenţă (sporii fiind cei mai rezistenţi). Acţiunea „cidă" a UV variază cu lungimea de undă; este apreciabilă începînd de la 330 nm, maximă între 280—250 nm; cantitatea cea mai mare de UV care atinge solul au 290 nm.

La lumină solară:
Eschericiha coli moare în interval de 1 oră**,
Salmonella typhi moare în interval de 2—3 ore,
Myc. tuberculosis moare în interval de 5—7 ore.

Lumina solară reprezintă factor principal de reducere a florei din aer, de pe suprafaţa solului, din apele limpezi puţin adînci (UV pătrund cîţiva centimetri într-o apă limpede, dar nu trec prin lichide cu suspensii sau emulsii dense); trecînd prin sticla obişnuită de geam, scurtează timpul de supravieţuire a bacteriilor patogene din încăperi (majoritatea UV sînt însă absorbite)***.

---

* Analiza radiaţiilor spectrului solar arată că *radiaţiile vizibile* sînt sau inactive, ca radiaţia verde, sau puţin nocive microbilor, ca radiaţiile galbene, roşii, albastre, violete; *radiaţiile infraroşii* au doar efecte termice.

** Cifre medii.

*** Materiale transparente care nu absorb UV se pot obţine din siliciu topit.

Mecanism. Efectul „cid" este datorat în special absorbției UV de către acizii nucleici și apoi de proteine; această energie suplimentară activează molecule determinînd fie rupturi de legături chimice, fie formare de noi legături, producînd (în raport de durata insolației) modificări de structură a ADN, avînd ca rezultat fie mutanți neviabili, fie mutanți viabili (cap. X). Efectul letal al UV are loc și indirect, prin acțiunea fotochimică asupra mediului (formare de ozon în aer, peroxizi în ape).

Aplicare. UV sînt larg aplicate în practică datorită realizării *lămpilor microbicide* cu vapori de mercur, care emit UV cu lungime de undă de 254 nm, foarte active. UV nefiind penetrante, aceste lămpi sînt folosite pentru decontaminarea suprafețelor pe care UV cad perpendicular (mese de laborator, farmacie etc.), a aerului în săli de operație, în boxele bolnavilor foarte susceptibili la infecții (arși, supuși tratamentelor imunodepresive, prematuri), în încăperi de spital în general, în încăperi în care se realizează mari aglomerații (sălii de așteptare) etc.

În utilizarea UV trebuie ținut seama de efectul lor fotochimic asupra unor medicamente, pe care le denaturează; medicamentele nu vor fi ținute în încăperi în care se face decontaminarea aerului cu UV; se are în vedere și efectul nociv ireversibil asupra retinei.

Radiații ionizante

În condiții de *iradiere subletală,* metabolismul acizilor nucleici devine instabil și rata mutației crește considerabil, de la 10^{-8} pînă la 10^{-3} (cap. Genetică). Ionizarea* intensă a compușilor celulari este însă incompatibilă cu viața; radiațiile ionizante — X, igama, fasciculele de particule ionizante *alfa* și *beta,* protoni, neutroni și alte particule cu înaltă energie — au acțiune letală asupra tuturor celulelor, inclusiv m.

Acțiunea radiațiilor *gama,* cele mai penetrante și microbicide, este din ce în ce mai utilizată în sterilizarea în condiții industriale, deoarece prezintă mari avantaje:

— sterilizarea se face la rece, în ambalaje, poate fi folosită pentru produse ce nu suportă căldura: utilaje (seringi, sonde etc.) pentru utilizare unică, făcute din materiale plastice etc;

— instalațiile, deși scumpe, au un randament foarte mare pentru sterilizare de alimente și medicamente.

E. ULTRASUNETELE

Ultrasunetele (US) sînt vibrații elastice cu o frecvență mai mare de 20 000 Hz (Hertz) și au efect „cid". Efectul US are loc prin denaturarea proteinelor, ruperea pereților celulari și liza consecutivă (dispersarea conținutului celular în mediu). Surse puternice de US (generatoare) cu frecvență egală sau mai mare decît 200 000 Hz permit dezintegrarea oricărui microb, chiar a celor mai rezistente, ca *Myc. tuberculosis,* spori bacterieni.

---

* Absorbirea radiațiilor ionizante de către atomi determină ionizarea, capacitatea acestora de a elibera electroni de înaltă energie.

US pot fi utilizate pentru sterilizarea şi curăţirea instrumentelor chirurgicale, întreruperea fermentaţiilor, dar nu şi pentru sterilizarea substanţelor chimice pe care le alterează.

F. ELECTRICITATEA

Curentul electric nu are acţiune directă remarcabilă asupra m., provoacă însă în mediu modificări fizico-chimice cu acţiune nocivă asupra lor: ridicarea temp. lichidului de suspensie (proporţional cu intensitatea curentului şi rezistenţa opusă), eliberare de clor, de ozon, ionizare.

Microbii posedă, în general, sarcină electrică negativă şi migrează la anod cînd se află în suspensie într-un lichid cu *p*H 7, în cîmp electric: bacteriile astfel încărcate se resping şi suspensia este omogenă. Neutralizarea sarcinii electrice prin adsorbţie de cationi, în special de H^+ (acidifiere), face ca bacteriile să înceteze de a mai migra la electroforeză, avînd totodată tendinţa de a se aduna în grămezi şi de a se depune, ceea ce poartă numele de ,,aglutinare acidă''. Punctul izoelectric, *p*H-ul la care încărcarea electrică a bacteriilor devine zero şi are loc ,,aglutinarea acidă'', pentru majoritatea microorganismelor, variază între *p*H 3,0—4,8.

G. PRESIUNEA OSMOTICĂ

În cazul marilor variaţii ale presiunii osmotice în mediul de suspensie, bacteriile suferă două tipuri de modificări:

Plasmoliza sau uscarea osmotică are loc în mediul hipertonic, apa din celulă este scoasă spre exterior, citoplasma se retractă odată cu membrana citoplasmatică, dezlipindu-se de peretele bacteriei care este rigid; metabolismul încetează; în această stare de ,,uscare osmotică'', unele bacterii intră într-o fază de viaţă latentă, unele mor. Uscarea osmotică are aplicaţii în conservarea alimentelor prin saramurare, sau în concentraţii mari de zahăr; în farmacie, hiperzahararea se utilizează pentru conservarea decocturilor, a infuziilor, pentru siropuri.

Plasmoptiza are loc în cazul suspendării bacteriilor în mediu hipotonic (apă distilată); se produce hidratarea celulei, turgescenţa, care merge pînă la ruperea învelişurilor şi moarte, prin dispersia citoplasmei în mediu, mai ales în cazul protoplaştilor şi sferoplaştilor (cap. II, A, 4).

H. PRESIUNEA MECANICĂ

Rezistenţa la presiune mecanică a m. este în general foarte mare, dar variabilă, în raport cu habitatul lor natural, terestru sau marin. Majoritatea bacteriilor, levurilor, mucegaiurilor terestre, în formă vegetativă, suportă presiuni enorme de 3 000 atmosfere şi mor abia la 6 000 atmosfere, după 14 ore; sporii mor la 12 000—20 000 atmosfere. O acţiune mai dăunătoare pot avea variaţiile bruşte de presiune. Speciile marine sînt mai rezistente. Cele izolate de la adîncimi cu presiuni de 500—1 000 atmosfere (specii barofile) suportă mai greu presiunea de o atmosferă; nici o aplicare practică.

*

În încheiere la acest capitol, este de reținut că prin moarte înțelegem pierderea capacității de înmulțire a microorganismelor celulare și de replicare a virusurilor.

Componente structurale microbiene (ca de exemplu „endotoxinele" bacteriilor gram-negativ) și produși de metabolism prezenți în mediu (exotoxine) pot persista însă și păstra anumite proprietăți patogenetice după moartea m. producător.

ADN bacterian sau viral își poate conserva calitatea de tipar pentru copierea unor caractere în procese de recombinare genetică cu condiția pătrunderii într-o celulă vie (cap. Genetică).

BIBLIOGRAFIE

1. DARMADY E. M., HUGHES K. E. A., DREWET S. E., TUKE W., VERDON P.: The cleaning of instruments and syringes. *J. clin. Path., 18,* 6, 7—11, 1965.
2. DESBORDES J., BONNEL P. H.: Enquête sur le contrôle de la stérilité des substances biologiques et des préparations pharmacéutiques. *Bull. OMS, 34,* 1, 1—19, 1966.
3. FLEURETTE J.: La stérilisation par les radiations ionisantes dans le domaine médical. *Lyon Méd.,* 13, p. 5, 1974.
4. KESSLER H. J., REDMANN U.: Experience with low temperature storage of bacteria and fungi. Infection, 2, 1, p. 29, 1974.
5. * * *: *Radiosterilisation of medical products.* Proc. of a Symp., Budapest, 1967.
6. * * *: *Isotopes and radiation in parasitology.* 1111. Proc. internat. atomic energy agency, Viena, 1973.

VII. ACȚIUNEA AGENȚILOR CHIMICI ASUPRA MICROORGANISMELOR

O mare varietate de substanțe chimice sînt toxice pentru m. — antimicrobiene —, capabile să inhibe înmulțirea (bacteriostatice, virostatice etc.) sau să omoare (microbicide) forme vegetative și chiar spori (sporicide); sterilizare prin agenți chimici este mai rar obținută. În raport cu gradul de toxicitate pentru organism, modul de acțiune asupra m. și utilizare, diferențiem *chimioterapice*, *antiseptice*, *dezinfectante*, *conservante*:

Chimioterapicele sînt substanțe cu *toxicitate selectivă*, toxice pentru m. și netoxice pentru organismul superior, putînd fi administrate fie pe cale orală fie parenterală (operație numită *chimioterapie*).

Antiseptic și *dezinfectant* sînt termeni cu aceeași etimologie*, substanțe folosite împotriva microbilor care dau infecții, dar care s-au diferențiat prin uzaj :

Antisepticele, substanțe mai toxice decît chimioterapicele, dar neiritante pentru învelișurile organismului viu, sînt *folosite în aplicații pe tegumente și mucoase sănătoase sau bolnave și pentru spălarea plăgilor* (operație numită antiseptizare) :

Tegumente (aseptizarea mîinilor înainte și după efectuarea unei manopere în focar septic, a tegumentelor bolnavului înainte de intervenții chirurgicale, în jurul plăgilor, pentru tratarea unor boli de piele ca foliculite, micoze etc.);

Mucoase (în gargarisme, badijonaje, periaj, paste de dinți; instilații pe conjunctivă, nas, faringe; spălături otice, uretrale, vaginale, băi de șezut**; unele substanțe nerezorbabile prin mucoase sînt folosite și pe cale orală ca antispetice intestinale etc.);

Plăgi supurate, fistule (spălare și astfel decontaminare care favorizează vindecarea) etc.

Dintre antiseptice se diferențiază substanțe și concentrații (conc.) cu utilizări speciale: pentru conjunctivă, pentru anumite mucoase, pentru aplicații pe tegumentele mai sensibile ale copilului, pentru plăgi infectate superficiale, profunde etc.*

---

* Infecție sau *sepsie*; *septic*, care conține microbi patogeni; *aseptic*, lipsit de microbi patogeni; *antiseptic* și *dezinfectant*, care omoară microbi patogeni, infectanți.

** În afară de baia de șezut în scop terapeutic, cea mai valoroasă este aceea în scop profilactic: spălarea mucoaselor și tegumentelor perineale, seara și dimineața și după fiecare scaun, cu apă și cel mai blînd antiseptic, săpunul, reprezintă metoda ideală de prevenire a celor mai multe infecții ale tractusului urinar și genital, la bărbat și la femeie: infecții care odată ajunse la rinichi sau în pelvis sînt foarte greu de tratat și invalidează, uneori pentru toată viața: duc la insuficiență renală, sînt factori favorizanți pentru unele forme de cancer genital, sterilitate la bărbat și la femeie, generează bacteriemii etc.

Dezinfectante sînt substanțe puternic microbicide (omoară repede formele vegetative ale microbilor patogeni și nepatogeni și chiar spori), dar prea toxice pentru organismul superior, utilizate numai pentru corpuri neanimate. Dezinfecția nu implică în mod obligator sterilizare și este folosită ori de cîte ori sterilizarea prin căldură nu poate fi aplicată : încăperi, mobilier, uși, ferestre, pardoseli, băi, chiuvete, W. C-uri, excrete în scuipători, bazinete, latrine, pătule etc. Prin dezinfecție se realizează decontaminare și sanitizare :

decontaminarea implică omorîrea microbilor care pot cauza boli, este obligatorie în condiții de spital pentru produsele patologice provenite de la bolnavul infecțios (obiectele, încăperea contaminată de bolnav, excretele cu bacil Koch, tific, holeric, enterovirusuri, virusul hepatitei A și B etc.), în laboratoare de spitale și policlinici (care prelucrează ser, sînge, produse patologice care pot conține în special virusul hepatitei B etc.) ;

sanitizarea, atribut intrinsec al vieții civilizate, este operația prin care se urmărește reducerea numărului de m. în general, patogeni și nepatogeni, pînă la limite considerate nepericuloase, care nu pot determina boală și nici alte alterări ; sanitizarea include și decontaminare ; este indispensabilă în toate întreprinderile alimentare de prelucrare și de servire, în toate industriile bazate pe procese de fermentații pentru spălarea complicatei țevărії a tancurilor de fermentare, de colectare și prelucrare a laptelui etc. ; în spitale, în locuințe și în afara lor . . .

Termenii *dezinfectant*, *antiseptic*, sînt adesea folosiți unul în locul altuia sau se folosește același termen, cel mai adesea *dezinfectant*, pentru desemnarea ambelor utilizări : operația este numită *dezinfecție* fie că este vorba de corpuri neanimate (pardoseli), sau de mucoasele sugarului, ceea ce *induce uneori greșeli grave* : utilizarea de soluții și conc. antiseptice pentru excrete, ceea ce este *inutil*, și invers, soluții dezinfectante utilizate pentru tegumente sau mucoase, ceea ce este foarte *periculos*, determină intoxicații, arsuri, și nu se întîmplă rar . . . .

Definirea substanțelor și concentrațiilor microbicide utilizabile ca antiseptice, sau ca dezinfectante, se face *in vitro*, prin testul de intoxicare a leucocitelor în culturi celulare, și *in vivo*, pe animal.

Conservante sînt substanțe antimicrobiene folosite pentru conservarea medicamentelor, reactivilor biologici și alimentelor care nu pot fi sterilizate prin căldură, pentru a evita alterarea : pot fi introduși direct în lichide, pot fi folosiți pentru impregnarea ambalajelor, pentru spălarea vegetalelor, a fructelor, a fructelor de mare etc. Ele asigură decontaminarea și mai ales previn înmulțirea bacteriilor și fungilor eventual existenți, anulînd alterarea ; sînt introduse în seruri terapeutice și de diagnostic, vaccinuri și antigene, coliruri, infuzii, siropuri etc. Folosirea excesivă a conservanților în alimente pune însă probleme de cumulare (în organism) cu efecte toxice (intoxicații cronice uneori foarte grave) ; utilizarea lor corectă este o știință.

---

* Menționăm că *valoroasele antiseptice pentru mucoase, plăgi și cavități septice, în bacterioze și micoze, sînt deseori nejustificat înlocuite cu antibiotice.*

A. DEZINFECTANTE, ANTISEPTICE, CONSERVANTE

Numărul substanţelor cu acţiune antimicrobiană este foarte mare şi de natură chimică foarte diferită (Tabel 17). Toxicitatea neselectivă (dezinfectante), sau puţin selectivă (antiseptice) a acestor substanţe se datoreşte mecanismelor prin care alterează celula şi care se adresează unor structuri celulare comune atît microbilor, cît şi celulelor organismelor superioare: (i) alterează membranele citoplasmatice (m. c. p.), (ii) denaturează structura proteinelor, (iii) blochează grupări chimic active întrerupînd metabolismul.

Tabelul 17

Substanţe cu acţiune antimicrobiană folosite în antisepsie şi/sau dezinfecţie

elemente chimice	Oxigen; hidrogen; metale grele: argint, mercur, cupru; halogeni: clor, iod, brom.
compuşi anorganici	acizi: boric, salicilic, sulfuric, clorhidric; baze: hidroxid de sodiu; săruri: azotat de argint, clorură de mercur, oxicianură de mercur, sulfat de cupru, permanganat de potasiu, clorat de potasiu, bicromat de sodiu, carbonat de sodiu etc. peroxid de hidrogen.
compuşi organici	detergenţi anionici şi cationici; fenoli, alcooli, eteri; aldehide; coloranţi; săpunuri.

1. AGENŢI TENSIOACTIVI

Agenţii tensioactivi sau surfactanţi solubilizează lipidele din m. c. p. provocînd dezorganizarea funcţiei de membrană: compuşii celulari ies din celulă şi invers, bacteria moare.

a) **Fenolul şi derivaţi fenolici.** *Fenolul* (acidul fenic) este primul antiseptic folosit de *Lister* (1867); are şi azi multe aplicaţii deşi este iritant şi foarte mirositor. Omoară m. prin acţiunea detergentă asupra lipidelor din m. c. p., denaturează totodată proteinele şi polizaharizii*; în conc. de 5% omoară bacilul Koch, fungii; la fierbere, omoară în 15—20 min. şi sporii.

Acidul fenic este folosit ca etalon în aprecierea activităţii microbicide a noilor substanţe, prin testul de determinare a *indicelui fenolic* (1 fiind indicele acidului fenic).

Mulţi derivaţi fenolici sînt mai activi şi mai puţin inactivaţi de materia organică, avînd numeroase utilizări ca antiseptici şi dezinfectanţi pentru produse organice (spute, fecale), în clinică (bazinete, scuipători etc.) și în laborator (pipete, lame . . .).

---

* Proprietate aplicată pentru extracţia acizilor nucleici.

Creolina (soluție de crezoli în rășini) în emulsie apoasă alcalină 1–2%, caldă, este un foarte bun antiseptic pentru spălarea plăgilor infectate (panariții); în conc. mai mari este dezinfectant pentru W. C., vase de noapte; folosit și în medicina veterinară.

Lizolul (ortohidroxidifenil + acid fenolic) este un foarte bun dezinfectant pentru instrumente chirurgicale, vase, pardoseli etc.; în soluție 3% este bun antiseptic; este bine înlocuit de *sudol*.

Acidul picric (trinitrofenolul), bun antiseptic pentru arsuri.

Naftolul (alcool al naftalenului) încorporat în ceară sau parafină era folosit pentru pansarea arsurilor.

Tymolul este bun conservant pentru urini, în laboratoarele de chimie.

Eugenolul, antiseptic cu largă utilizare în stomatologie etc.

Numeroși alți derivați fenolici au fost obținuți în ultimul timp cu proprietăți valoroase în antisepsie, *neiritanți*, *inodori*, putînd fi înglobați în *săpunuri*, în *creme*, folosiți ca *soluții apoase*, sau în *pudre*; sînt de reținut derivații fenolici halogenați (diclorofene și mai ales hexaclorofene, cloroxyfenoli), cu coeficienți fenolici mult superiori acidului fenic (c. f. = 1).

Hexaclorofenul este foarte activ față de stafilococii aurii, mai puțin față de b. gram-negativi și inactiv față de piocianic; este bun antiseptic cu acțiune lentă și remanentă; 3% folosit în săpun și în pudre, 1% în pomezi de protecție a plăgilor; fiind remanent și putîndu-se absorbi, cînd este folosit în mod repetat sau supradozat (6%) poate da accidente toxice, chiar moarte la nou născuți; *Phisohex* (hexaclorofen 3% în soluție de detergent) este mai activ; corect aplicate, dau foarte bune rezultate în stăpînirea infecțiilor de spital cu stafilococ, în secții de sugari ca și de adulți.

Clorhexidina sau *Hibitan* (hexametilen-clorfenil-diguanido-hexan), 0,5–1% în soluție de alcool izopropilic 70% este folosit pentru prepararea tegumentelor, preoperator, iar soluția apoasă pentru spălarea plăgilor; activ asupra bacteriilor gram-pozitiv și gram-negativ.

b) **Detergenți.** Un mare număr de compuși de sinteză produși pe cale industrială au numeroase utilizări datorită acțiunii lor concomitent *antimicrobiană* și *detergentă* (de curățare), de o deosebită valoare în profilaxia nespecifică a bolilor infecțioase: buni emolienți, dizolvă uleiurile (emulsifianți), precipită albuminele, proteinele în general, sînt spumanți; au și alte importante calități, sînt inodori, incolori, necorozivi și puțin toxici pentru tegumente în conc. active; sînt folosiți ca agenți de spălare, antiseptici și dezinfectanți:

Detergenți anionici (sodium-alkil sulfați, săruri de alcooli sulfurați), numiți și săpunuri, a căror acțiune detergentă aparține anionului, sînt bactericizi mai ales pentru gram-pozitivi, acțiune mult intensificată la cald; *sînt cei mai buni agenți de spălare actuali*, rezistenți la apă dură, pătrund în fibra textilă, au înlocuit practic săpunurile clasice. Utilizarea lor ca agenți de spălare este generală: lenjerie, veselă, instrumentare, aparataje, faianță, pardoseli, lemnărie, pereți uleiați, ferestre etc. Au aceeași aplicație în menaj, cămine-cantine, restaurante, ca și în spitale, în toate industriile în care se impune curățenia și dezinfecția instalațiilor (țevărie, tancuri de fermentare, rezervoare), în sectorul zootehnic etc. Denumirile comerciale, ca și formulele sînt foarte numeroase (*Perlan*, *Dero*, *Alba* etc. etc. . .).

Săpunurile de Na (săpun tare) şi de K (săpun moale) sînt agenţi de spălare a căror acţiune antibacteriană este doar mecanică, de îndepărtare; săpunul cu hexaclorofen, cu activitate bactericidă remanentă, este recomandat pentru spălarea mîinilor în chirurgie, bărbierit.

Detergenţii cationici sînt mai microbicizi decît cei anionici; sînt folosiţi ca agenţi de spălare şi decontaminare pentru plăgi murdare, infectate, pentru întreţinerea igienică a părului, ca şi pentru degresarea şi decontaminarea veselei, tacîmurilor etc. Cei mai folosiţi sînt compuşii de amoniu cuaternar: *Zefirol* (clorură de benzalconiu) este cel mai vechi, descoperit de *Domagk*; *Ceepryn* (clorură de cetilpirimidinium), *Phémerol* (clorură de benzetoniu); *Cetawlon* (bromură de cetiltrimetilamoniu); *Diaparen*; *Bradosol*; *Aerosol*; *Emulsept*; *Laurodin* (acetat de laurodinium), foarte bun antiseptic pentru piele; *Picloxydine*, antibacterian puternic; *Resiguard*, activ şi faţă de gram-negativi şi netoxic pentru ochi şi pulmon, putînd fi pulverizat pe suprafeţe greu de dezinfectat, pereţi; *Tego*, preţios spectru antimicrobian inclusiv gram-negativi, virusuri, dar scump şi inactivat uşor de materia organică; *Bromocet* (soluţie hidroclorică 10% sau 20% de bromură de cetilpirimidinium), preparat românesc, dezinfectant în soluţie apoasă 1% şi antiseptic în soluţie $1^0/_{00}$ (spălarea mîinilor în chirurgie, a plăgilor infectate, a părului).

Detergenţii cationici sînt inactivaţi de fosfolipide şi de săpunuri obişnuite, fapt de care trebuie ţinut seama cînd sînt folosiţi pentru antiseptizarea pielii, în chirurgie; săpunul trebuie îndepărtat prin spălare cu apă şi ştergere cu soluţie de alcool 50%.

2. AGENŢI DE DENATURARE A PROTEINELOR

Substanţe care modifică profund starea fizico-chimică a protoplasmei prin precipitarea proteinelor (coagulanţi), suprimînd activitatea metabolică; o astfel de activitate brutală au acizi, baze, alcooli, cloroform:

Acizii sînt substanţe ionizante, acţiunea lor bactericidă este proporţională cu concentraţia ionilor de H^+, eliberaţi prin disociere; activi sub limita de *p*H 5. Unii acizi sînt activi şi prin intermediul anionului şi al moleculei nedisociate; ca antiseptice se folosesc acidul boric pentru conjunctivă şi acidul salicilic pentru unele dermatite.

Baze, substanţe ionizante cu acţiune microbicidă datorată anionilor OH^-; uneori este toxic şi cationul metal; hidroxidul de sodiu 5%, soluţie fierbinte, este şi sporicid; 10% omoară în 24 ore bacilul Koch din spută.

Alcoolii: sînt utilizaţi atît alcoolul etilic cît şi izopropilic; izopropanolul are avantajul că este mai puţin volatil. Acţiunea lor cidă este manifestă la conc. 50–70%; conc. mai mari sînt lipsite de acţiune deoarece precipită foarte repede proteinele de pe suprafaţa celulelor microbiene, iar protoplastul rămîne viu; au fost puşi în evidenţă *spori de bacil tetanic şi bacteridie cărbunoasă în alcool absolut.* Se recomandă filtrarea şi menţinerea în flacoane sterile cînd sînt folosiţi pentru antiseptizarea pielii înainte de injecţii. Sînt indicaţi numai pentru dezinfecţie prelungită a obiectelor curate cum sînt termometrele. Adaosul de iod (1–2%), clorhexidina (0,5%), laurodin (5%) în alcool 70% intensifică activitatea cidă.

Cloroformul, substanţă volatilă microbicidă; pentru această calitate este un bun conservant folosit în conc. $0{,}25^0/_{00}$ pentru seruri imune, vaccinuri.

3. INHIBITORI ENZIMATICI

Agenţi de interferare metabolică, substanţe care reacţionează cu grupări chimic-active ale proteinelor-enzime (carboxilice, aminice, sulfhidrilice, fenolice, imidazolice), determinînd blocarea funcției, transformîndu-le în compuși metabolic inerți :

a) **Aldehide.** *Aldehida formică* se combină cu grupări bazice amino- și imidazolice ale proteinelor, transformîndu-le în mase imputrescibile; este comercializat sub numele de :

formol, soluție apoasă saturată de formaldehidă 40%;
polimeri solizi, care prin încălzire eliberează aldehida formică;
formalina, formol + metanol 10%.

Aldehida formică are calități deosebite : este printre puținii dezinfectanți care *omoară și sporii la temperatura camerei*, este *virulicid*, *nu alterează* îmbrăcăminte, încălțăminte, echipament moale de pat, obiectele din camerele de baie (perii de dinți, de unghii, bureți etc.), mobilier și foarte numeroasele materiale sintetice, cauciucuri etc., din care se face aparatură și instrumente de spital și care nu suportă sterilizări prin căldură. În plus, poate fi folosită sub formă gazoasă foarte penetrantă, ceea ce permite dezinfecția încăperilor în întregime, fără a fi demontate, și etuve cu formol pentru sterilizarea instrumentelor și aparatelor care nu pot fi sterilizate la autoclav sau Poupinel; este însă toxic și trebuie îndepărtat prin aerisire, spălare (v. pag. 129).

Formaldehida 5% în apă este un foarte activ dezinfectant; 8% omoară sporii în 10—30 min. și deasemenea virusul hepatitei tip B.

(Formol $5^{0}/_{00}$, la 37—39°C, transformă toxinele în anatoxine — vaccinuri —, unicul agent capabil de o astfel de acțiune.)

Glutaraldehida 2% în soluție apoasă este sporicid și virulicid foarte *recomandat limitativ, fiind scump, pentru decontaminarea obiectelor (inclusiv cele de metal) murdărite cu sînge în care poate fi prezent virusul hepatitei B,* pentru sterilizarea obiectelor ce nu suportă căldura (cistoscoape, aparatură pentru anestezie, bronhoscopie și mai ales aparatura folosită în hemodializă); mai eficient și mai puțin iritant decît formaldehida.

b) **Metalele și sărurile metalelor grele.** Sînt microbicide prin intermediul ionului metal eliberat prin disocierea sărurilor metalice în soluții. Cationii metalelor grele, Ag, Hg, Cu, au acțiune antimicrobiană în concentrații foarte reduse, denumită de *Naegeli* „oligodinamică" ; blochează grupările sulfhidril ale proteinelor constitutive microbiene dînd compuși inactivi. Efectul microbicid al ionilor metalici este deci diminuat de prezența proteinelor de balast (produse patologice, mucoasă, ape cu încărcare organică etc.), folosirea lor fiind restrînsă :

Argintul, puternic microbicid lipsit de toxicitate, a fost folosit pentru potabilizarea apei prin Ag metalic (procedeu foarte vechi); folosit și ca antiseptic :

— azotatul de Ag 1% este folosit și azi pentru prevenirea oftalmiei gonococice a nou-născuților și în tratarea arsurilor;

— compușii metaloorganici de Ag nu și-au pierdut valoarea, *argirol*, *colargol*, *protargol* sînt utilizați în coliruri și soluții pentru instilații conjunctivale, nazale, în pomezi.

Mercurul este mai toxic (oxicianura și sublimatul sînt numai bacteriostatici și foarte toxici, au fost părăsiți); mai buni sînt compușii metalo-organici : *mertiolatul* sau *merseptul*, 1/10 000, este un foarte bun conservant pentru seruri și vaccinuri; *merfenul*, *metafenul*, *mercurocromul*, bactericizi în concentrații foarte mici, sînt folosiți ca antiseptice.

c) **Substanțe oxidante.** *Ozonul*, dezinfectant activ pentru aer și apă, în conc. mare devine toxic.

Apa oxigenată 1% este un bun antiseptic pentru mucoasa faringeană, în gargarisme, activă asupra streptococului *pyogenes*, spirochetelor, bacteriilor anaerobe.

Permanganatul de potasiu este un bun antiseptic pentru mucoase și plăgi: 1/1 000 în spălături uretrale, vaginale; 3/1 000 pentru spălarea plăgilor murdare; 1/10 000 pentru tegumente.

Varul stins (hidroxidul de calciu) în 4—8 volume de apă este folosit ca lapte de var, sau apă de var, realizînd o foarte bună dezinfecție a pereților; utilizat ca dezinfectant pentru depozite de materie organică contaminată cu m. patogeni, latrine.

Halogenii acționează ca agenți puternic oxidanți punînd în libertate oxigen în stare născîndă și producînd oxidarea generală a produșilor organici celulari; prin intermediul ionului mineral care se substituie în structurile aminoacizilor, produc denaturarea proteinelor:

Clorul gazos, 2—3 mg$^0/_{00}$, folosit în potabilizarea apei, sanitizarea piscinelor (se combină cu apa și eliberează oxigen în stare născîndă, puternic microbicid); este inactivat de materia organică, încît cantitățile necesare pentru potabilizare cresc odată cu cantitatea acestora în apă; derivații de clor, hipocloriți și cloramine, sînt activ microbicizi, dar mai ușor inactivați de materia organică decît fenolii; de aceea sînt utilizați în general pentru dezinfecția suprafețelor curate:

Hipocloritul de sodiu, puternic oxidant, dezinfectant pentru ape; *Dakin* (soluție 0,4—0,5 tamponată cu bicarbonat de Na) este un foarte bun antiseptic pentru plăgi infectate;

Hipocloritul de potasiu cu clorură de potasiu este *apa de Javel*, cu foarte multe utilizări: potabilizarea apei; dezinfectant folosit în industrii alimentare, de prelucrare a laptelui, restaurante, cantine, bucătării etc. pentru spălarea meselor, vaselor, utilajelor; este adăugat în apa de clătire a lenjeriei, după spălare; este dezinfectant *recomandat în spitale și laboratoare în care există posibilitatea contaminării cu virusul hepatitei B*, pentru decontaminarea mănușilor, pipetelor, seringilor etc. (nu pentru metale, fiind corosiv); pentru spălarea obiectelor, pardoselilor etc.

Hipocloritul de calciu sau clorura de var este dezinfectant pentru W. C. (primul antiseptic introdus de *Semmelweis* în maternități, 1847);

Combinații de diferiți hipocloriți sau/și alte săruri cu detergenți, dau soluții mai active (*Cloros*, *Eusol*, *Milton* etc.) cu aceleași indicații și restricții: *corosivi* (nu pot fi folosiți pentru metale) și *inactivați de materii organice* (ceea ce indică numai folosirea de soluții preparate zilnic în spitale și laboratoare pentru lame microscopice, pipete cu urme de sînge, excrete etc.);

Cloramina 1% eliberează clor activ; este mai puțin iritantă decît hipocloriții pentru spălarea rănilor; sub formă de tablete este folosită pentru dezinfecția apei de băut (la pahar).

Iodul este un oxidant puternic microbicid (fără a fi sporicid), inactivat de materia organică, corosiv. Este folosit pentru tegumente, preoperator, datorită acțiunii microbicide rapide, pentru tratarea micilor pustule dermo-subepidermice, foliculite, mici răni infectate; este însă iritant și contraindicat pentru plăgi curate, tăiate, mari. Se folosește în soluții alcoolice (tincturi) și soluții iodoiodurate în alcool diluat, diferite formule: 1,5% iod în ethanol 70%; 2% iod + 2,5% iodură de potasiu în alcool etilic 50%; 2% iod în alcool izopropilic 70% etc.

Iodoforii sînt compuşi de iod cu detergenţi anionici, mult mai puţin iritanţi decît iodul, nu colorează, mai activ sporicizi, fungicizi, omoară rapid bacilul Koch, *Trichomonas*; pot fi folosiţi nu numai pentru tegumente intacte, ci şi pentru plăgi mari, în comprese care pot fi menţinute 2—3 zile; preoperator sînt recomandate *Betadina* (soluţie de iod 1—2% şi polivinilpirolidon-providon — în apă) şi *Providon-iodul* (2% iod în alcool etilic 70% cu providon).

d) **Coloranţi.** *Coloranţii bazici* se combină cu grupările acide ale acizilor nucleici; *coloranţii acizi* reacţionează cu grupările bazice amino- şi imidazolice alterînd proteine. Un număr mare de materii colorante au proprietăţi microbicide în concentraţii mici: cristal violet, verde malachit, verde briliant, albastru de Paris, violet de genţiana, albastru de metilen, fucsină bazică şi acidă. Acţiunea lor este mai selectivă, omoară mai uşor bacteriile gram-pozitiv, dar şi în cadrul acestora acţiunea diferă:

Violetul de genţiana inactivează bacteriile gram-pozitiv în conc. de 1/10 000—1/50 000; bacteriile gram-negativ sînt inactivate abia de conc. 1/5 000. Acţiunea diferă şi în raport cu specia, de exemplu, 1/1 000 000 în bulionul de cultură inhibă creşterea stafilococilor şi difteroizilor, dar streptococii cresc foarte bine chiar la conc. mai mari, 1/250 000.

Fucsina bazică este activă asupra bacteriilor gram-negativ, în diluţie de 1/500.

Utilizarea coloranţilor se rezumă azi la prepararea mediilor de cultură selective pentru izolarea anumitor bacterii (inhibînd creşterea unor specii, o favorizează pe a altora); rămîn totuşi bune antiseptice (de necesitate) pentru piele şi mucoase.

Coloranţii acridinici (proflavina, acriflavina, quinacrina) au intensă acţiune bacteriostatică şi antiprotozoa în conc. netoxice pentru mucoase; au aplicaţii terapeutice în malarie; interferează creşterea prin legarea de guanină; au şi acţiune fotodinamică, la lumină fluorescentă absorb energie determinînd ruperea bazei:

rivanolul, compus acridinic, este un bun antiseptic.

4. DEZINFECTANŢI GAZOŞI

Dezinfectanţi puternici folosiţi pentru decontaminarea materialelor care nu se pretează la sterilizări prin căldură (autoclav, Poupinel) şi nu pot fi dezinfectate cu soluţii; de un interes deosebit sînt dezinfectanţii gazoşi pentru decontaminarea încăperilor cu întreg echipamentul moale (perne, pături, saltele etc.) şi mobilierul, instrumente medicale din cauciuc, materiale sintetice, substanţe şi obiecte ambalate. Cei mai valoroşi sînt oxidul de etilen şi formaldehida:

Oxidul de etilen (C_2H_4O), gaz incolor cu miros plăcut, reacţionează cu grupările sulfhidril, amino, carboxil şi hidroxil din molecula de proteine, omoară toate m.; este inflamabil, dar poate fi folosit în amestecuri neinflamabile cu CO_2 *(Carboxid)*, sau cu freon *(Cryoxid)*, pentru sterilizare. *Sterilizarea* se face în etuve speciale cu vapori de apă 50%, la 54°C, expunere 3—5 ore. Are o mare penetrabilitate chiar în conteinere închise, din plastic, pachete.

Formaldehida (CH_2O), cu tot mirosul înţepător şi iritant pentru conjunctivă, este cea mai la îndemînă pentru decontaminarea încăperilor de spital cu întregul lor echipament, laboratoare. Se practică pulverizarea, sau vaporizarea prin încălzire la 70°C, *calculînd 30 ml formol sau formalină pentru 1 m^3 spațiu, timp de expunere 10—20 ore, după care este necesară o aerisire de 3—4 zile.* Formolul este diluat în apă pentru a se obține și umectarea aerului (50%), esențială activității. Etuve de formolizare sînt utilizate în spitale pentru instrumente nesterilizabile prin căldură.

Alte substanțe sporicide care pot fi folosite ca sterilizanți gazoși sînt *betapropiolactona* (alkilant ca și formaldehida) și *acidul peracetic* (un puternic agent oxidant, cam toxic, necesitînd o lungă aerisire, consecutivă operației de sterilizare).

★

Foarte variate combinații și amestecuri au fost realizate în ultimul timp, *în care revin aceleași substanțe antimicrobiene de bază*: formaldehida 8% (prezentă în *Lysoform* folosit ca dezinfectant și antiseptic), săruri fenilmercurice (prezente în *Merfen*, *Remanex*), hexaclorofen (în *Remanex*) etc.

Antifungicele sînt numeroase, folosite în tratamentul micozelor superficiale: iodura de potasiu soluție saturată, tiosulfat de sodiu 20% în alcool, acid salicilic 2% în alcool, timol 2—4% în cloroform, iodoclorhidroxiquin (Vioform), tolnaftat, benzoați etc. (vezi partea VII).

Condiționarea activității dezinfectantelor și antisepticelor; criterii de utilizare. După cum a reieșit din cele expuse, acțiunea microbicidă este influențată de numeroși factori:

crește odată cu *concentrația**, unele substanțe putînd fi folosite și ca antiseptic și ca dezinfectant, conservant;

crește cu *temperatura*; la fierbere, majoritatea devin și sporicide în cîteva minute (fenoli-crezoli-naftoli, detergenți);

crește cu *durata* de acțiune; din acest punct de vedere se face diferența între *antiseptice cu acțiune lentă* (hexaclorofen, alcool) și *cu acțiune rapidă* (iodofori și alte combinații alcoolice de iod și clorhexidină), foarte utile pentru antiseptizarea tegumentelor în urgențe chirurgicale, puncții rahidiene, inserția cateterelor vasculare, injecții în general.

Activitatea cidă este în funcție de forma de existență și de *specia* microbiană. O grupare cu totul orientativă din acest punct de vedere, de care trebuie ținut seama la alegerea antisepticelor, este următoarea (de la cele mai sensibile la cele mai rezistente): bacterii gram-pozitiv, bacterii gram-negativ (în general), bacilul piocianic, bacilul Koch, fungii, virusul hepatitei B, sporii bacterieni (protozoarele sînt foarte sensibile în general).

Acțiunea dezinfectanților este influențată și de *p*H; pentru unele, chiar mici variații sînt salutare pentru obținerea efectului cid.

Trebuie avută în vedere acțiunea corozivă a unor dezinfectante.

Acțiunea multor substanțe este mult influențată și treptat anulată de *prezența materiei organice* (sînge, ser, puroi, spută, dejecte etc.), încît o atenție deosebită se acordă acestui aspect în alegerea dezinfectantelor, în raport de scop (de exemplu, fenolii sînt mai activi decît hipocloriții sau *Tego* în prezența materiei organice, dar hipocloritul este mai activ asupra virusului hepatitei B, este însă corosiv încît, pentru metale, este înlocuit cu glutaraldehida etc.).

---

* Cu unele excepții, alcoolul etilic și izopropanolul.

Infecția de spital prin *antiseptice contaminate* (vechi, perimate) și rezistența dobîndită a bacteriilor la dezinfectante sînt probleme tot mai des semnalate. De aceea, o corectă utilizare a dezinfectanților și antisepticelor în spitale necesită existența laboratorului și a consilierului de specialitate.

Avînd în vedere așa de numeroasele condiționări, în practica de spital nu trebuie uitat nici un moment că *dezinfecția se folosește numai atunci cînd sterilizarea prin căldură nu poate fi aplicată**, deoarece:

căldura este mai ieftină,
căldura este mai eficace (sterilizează),
căldura nu este toxică,
căldura nu este atît de complicată metodologic ca dezinfecția.

În concluzie, căldura este recomandată ori de cîte ori produsul de sterilizat suportă temperatura de sterilizare.

B. CHIMIOTERAPICE

Chimioterapicele (Ch.) sînt substanțe de sinteză cu *toxicitate selectivă*, toxice pentru microorganisme, netoxice pentru gazda infectată.

Inițiatorul chimioterapiei, *Paul Ehrlich* (1854—1915) a elaborat principiul care stă azi la baza sintezei de noi produși antimicrobieni, înainte de a fi descoperit primul chimioterapic și a persistat pînă a reușit în căutarea „glonțului magic": substanța chimică capabilă să inhibe metabolismul microbian fără a altera pe acela al celulelor organismului tratat.

Compușii arsenicului (arsfenamine). Primul „glonț magic" preparat pe baza concepției lui *Ehrlich* a fost *atoxilul* (p-amino-fenilarsenat); *Thomas* și *Breinl* (1905) au constatat activitatea lui în tripanosomiaza șoarecilor, deși este inactiv *in vitro*; *Ehrlich* a demonstrat că, în organism, atoxilul este convertit în substanța activă p-amino-fenilarsenoid. Atoxilul a fost primul chimioterapic folosit la om în tratamentul tripanosomiazei, boala somnului dată de *Tripanosoma gambiense*, transmisă de musca *tse-tse*. Cercetările lui *Ehrlich* au culminat cu prepararea compușilor organici de arsenic, *salvarsanul* sau „compusul 606", sintetizat în 1908 și care a fost folosit în tratamentul spirochetozelor, al sifilisului și febrei recurente, înlocuit apoi de *neosalvarsan*.

Bismutul, preparat treponemicid descoperit și studiat de *C. Levaditi*, cercetător român, împreună cu neosalvarsanul au reprezentat medicația antisifilitică pînă la descoperirea penicilinei.

Sulfamide

Cînd mulți cercetători ajunseseră la concluzia că bacteriile propriu-zise, spre deosebire de protozoare și spirochete, nu sînt susceptibile la chimioterapice, *Domagk* (1935), studiind fagocitarea streptococilor de către celulele *Kupffer* la șoarece, a constatat că animalele rezistau mai bine dacă erau tratate înainte de infectare cu anumite substanțe. Astfel a fost descoperită acțiunea *prontozilului roșu*, un azocolorant bazic.

Preparatul vindeca infecția experimentală streptococică cu doze mortale. Rapid, prontozilul a fost încercat cu bune rezultate în infecția streptococică la om; în 1936, *Colebrook* și *Kenny* au comunicat tratarea cu succes a infecției puerperale. Astfel a început *era terapiei infecțiilor*, cu sulfamide.

---

* De exemplu, dușumeaua nu poate fi autoclavată și va fi dezinfectată, dar cîrpa de spălat trebuie autoclavată; *această operație face parte din cele mai moderne norme de prevenire a infecțiilor de spital.*

Prontozilul nu este activ *in vitro*; ca și atoxilul, este convertit în produs antimicrobian în organism, în *sulfanilamidă*. A început apoi sintetizarea de numeroși compuși sulfonamidici, *sulfamidele albe*. Seria sulfonamidelor se bazează pe molecula de sulfanilamidă cuplată cu diferite alte grupări organice substituite de obicei grupării sulfanil ($-SO_2NH_2$), substanțe active, atît asupra bacteriilor gram-pozitiv, cît și asupra celor gram-negativ (coci și bacili dizenterici, mai ales).

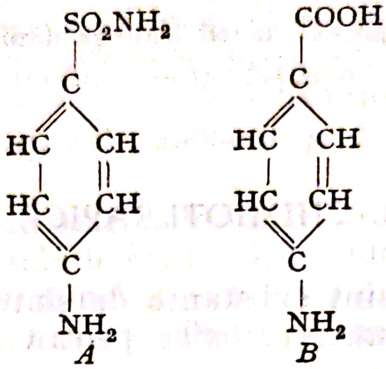


Fig. 39: Asemănare structurală a sulfamidei (A) cu acidul paraaminobenzoic-PAB (B).

Cheia mecanismelor acțiunii bacteriostatice a sulfamidei (Su) a fost găsită în asemănarea ei structurală (fig. 39) cu acidul paraaminobenzoic (PAB), un factor esențial de creștere pentru bacterii*: în cursul procesului de sinteză bacteriană în prezența Su, aceasta se substituie acidului PAB și diviziunea bacteriilor este blocată, bacteriostază**, (ipoteză emisă de *Woods* în 1940 și de *Fildes*, în același an). În adevăr, Su acționează cel mai intens în faza de înmulțire logaritmică a bacteriilor (metabolism foarte activ) și sînt inactive asupra celor în fază de latență. Acest mecanism este numit *inhibare competitivă* (Su este în competiție cu acidul PAB pentru cuplarea cu funcția enzimatică activă a bacteriilor).

Pe de altă parte, acțiunea Su poate fi la rîndul ei anihilată prin exces de acid PAB: într-o cultură la care a fost adăugată o cantitate mare de PAB, substituirea nu mai are loc. Așa se explică adăugarea de acid PAB la mediile folosite pentru hemoculturi la bolnavi tratați cu Su.

Acidul PAB este metabolit esențial pentru multe bacterii gram-pozitiv și -negativ, ceea ce explică *spectrul larg de acțiune antibacteriană a sulfamidelor.*

Lipsa de toxicitate a Su se explică prin faptul că celulele animale nu sintetizează acid folic (și-l procură din surse exogene) și ca atare nu utilizeată acid PAB (și nu fixează Su).

---

* Acidul PAB este parte a unei coenzime, acidul folic (care reprezintă o treaptă în sinteza purinelor) pe care bacteriile și-l sintetizează singure, utilizînd PAB.

** Eliminarea acestor bacterii din organism este realizată de fagocite (cap. XII).

Descoperirea antagonsimului PAB—Su și a acțiunii antibacteriene prin substituire competitivă a dus la **elaborarea conceptului general actual al antimetaboliților ca agenți potențial terapeutici.** *Inhibarea competitivă este mecanismul de acțiune al chimioterapicelor și antibioticelor bacteriostatice și al unor bactericide.* Astfel de medicamente sînt mai eficiente în infecții acute — în care înmulțirea rapidă a microbilor asigură legarea activă a drogului — decît în infecții lente (endocardita lentă bacteriană), supurații cronice.

Există azi sute de sulfamide, cu proprietăți farmacodinamice diferite dar, practic, *cu același spectru larg de activitate* față de: bacterii gram-pozitiv și gram-negativ, specii *Nocardia, Chlamydia*; există însă diferențe mari privind concentrația minimă inhibitorie (CMI) față de diferitele specii și, ca atare, și de eficiență *in vivo* (vezi cap. IX).

Bacteriile capătă cu ușurință *rezistență* la Su (vezi cap. X); o bacterie devenită rezistentă la o Su este rezistentă față de majoritatea sulfamidelor, ceea ce numim *rezistență încrucișată.*

Cercetări întreprinse sistematic, în baza principiului *inhibiției competitive,* au permis sinteza de noi agenți chimioterapici valoroși.

Chimioterapice cu indicații speciale, pentru bacterii care determină infecții urinare și intestinale

Acidul nalidixic (Negram) și derivații săi, *acidul pipemidic* (Piperam) și *acidul oxolinic* (Urotrat) sînt bactericizi, blochează sinteza DNA bacterian; sînt activi față de bacilii *gram-negativ,* mai ales *Escherichia, Klebsiella, Enterobacter*; acidul oxolinic este activ și față de *Proteus*; rezistența cîștigată la Negram se instalează relativ repede.

Nitrofuranii (Nitrofurantoin sau Furadantin, Furazolidon), *bactericizi,* toxici, cu spectru larg; rezistența cîștigată apare lent.

Trimetoprim (diamino-trimetoxibenzil-pirimidin), inhibitor enzimatic, interferează sinteza unei component al bazelor purinice; utilizat în combinații cu Su (sulfametoxazol) sub numele de *Cotrimoxazol* (Septrin, Bactrin) foarte eficient împotriva b. gram-negativ (*Brucella, S. typhi, N. gonorrhoeae, H. influenzae* etc.), dar și asupra unor b. gram-pozitiv (enterococ, pneumococ, stafilococ).

Chimioterapice antituberculoase

Acidul paraaminosalicilic (PAS) este un analog al acidului PAB, pătrunde în bacterie și este încorporat într-un analog al acidului folic; este un bacteriostatic cu spectru limitat la bacilul Koch.

Hidrazida acidului izonicotinic (HIN) este *bactericid,* pătrunde intracelular (mai activ decît streptomicina și PAS).

Etionamida (Nizotin, Amidazin) penetrant intracelular, inferior streptomicinei, superior acidului PAS; rezistența cîștigată apare repede.

Etambutolul este cel mai valoros chimioterapic antituberculos, netoxic.

Bacilul Koch capătă cu ușurință rezistență la chimioterapice, ca și la antibiotice (v. cap. XXXII, A, k).

Leprostatice

Diamino-difenil-sulfona (Dapsona sau DDS), primul preparat utilizat împotriva *Myc. leprae*, acţionează probabil ca agent competitiv al PAB; serveşte ca bază pentru noi derivate.

Clofazimina (Lamprène)—$C_{27}H_{22}Cl_2N_4$ — este tuberculostatic şi leprostatic, avînd şi acţiune antiinflamatorie.

◆

(Chimioterapice active împotriva micetelor şi protozoarelor ca şi problema substanţe antivirale vor fi tratate la capitolele speciale cuprinse în părţile V, VI şi VII).

BIBLIOGRAFIE

1. BERG T. M.: Semiautomated microbiological method for the assay of quaternary ammonium compounds. *Appl. Microbiol.*, *29*, 6, p. 713, 1975.
2. DUCA E., BERNESCU E.: Spălarea sticlăriei. În „Propuneri pentru standardizarea serodiagnosticului sifilisului". Partea II-a. *Rev. Med. Chir.*, *80*, 4, 611—612, 1976.
3. EYER M.: Mőglichkeiten und grenzen der lokalen haut desinfektion. *Munch. med. Wschr.*, *116*, 17, p. 863, 1974.
4. KELSEY J. C., MAURER I. M.: The use of chemical desinfectants in hospitals. *Publ. Hlth. Lab. Serv. Monogr. Ser.*, 2, London, 1972.
5. LAPIERE C. L., THUMES L.: Les ammonius quaternaires. *Journée Sci.*, 20 mars 1966.
6. LENG B. M. et all.: Les agents anti-infectieux recents. *Bordeaux Méd.*, *9*, 21, 1625—1632, 1976.
7. LILLY H. A., LOWBURY E. J. L.: Disinfection of the skin with detergent preparations of irgasan DP_{300} and other antiseptics. *Brit. Med. J.*, 4, 372—374, 1974.
8. LOWBURY E. J. L., LILLY H. A., AYLIFFE G. A. J.: Preoperative disinfection of surgeons'hands: Use of alcoholic solutions and effects of gloves on skin flora. *Brit. Med. J.*, 4, 369—372, 1974.
9. LOWBURY E. J. L., LILLY H. A.: Gloved hand as applicator of antiseptic to operations sites. *Lancet*, 7925, p. 153, 1975.
10. MOTOC D.: *Microbiologia produselor alimentare*. Ed. tehnică, Bucureşti, 1964.
11. MOUBLE P.: Des gants source de contamination operatoire? *Presse Méd.*, *78*, 8, 381—383, 1970.
12. PRINCE J., DEVERILL C. E. A., AYLIFFE G. A. J.: A membrane filter technique for testing desinfectants. *J. Clin. Path.*, 28, 71—76, 1975.
13. SELWYN S., ELLIS H.: Skin bacteria and skin disinfection reconsidered. *Brit. Med. J.*, *1*, 5793, 136—140, 1972.
14. WORMS R.: La désinfection des gites microbiens inapparents dans le traitement de la furunculose. *Cahiers Méd.*, *13*, 3, 219—224, 1962.
15. * * *: Die Desinfektion, eine disziplin. *Forum Medici*, 10, 1969.
16. * * *: Hexachlorophene in the nursery. *The medical letter*, *15*, 1, 1973.
17. * * *: Neuropathology in newborn infants bathed with hexachlorophene. *Wkly Epidem. Rec.*, 19, 1973.
18. * * *: Use of disinfectants in hospitals. A report by the Publ. Hlth. Lab. Serv. Committee on the testing and evaluation of disinfectants. *Brit. Med. J.*, 1, 408—413, 1965.

VIII. PRINCIPALE RELAȚII ECOLOGICE CARE SE STABILESC ÎNTRE MICROORGANISME

> *„De fapt civilizația datorează mult microbilor"* (A. J. Kendal, 1923).

Relațiile ce se stabilesc temporar sau în cursul evoluției filogenetice între m., între organismele superioare animale și vegetale, între acestea și m., se numesc relații sau *raporturi ecologice*. Studiul relațiilor între m. a dus la descoperirea unor fenomene care, în afara interesului biologic general, au permis deducții de importanță medicală cu aplicații în diagnostic, profilaxie, terapie. Astfel de studii stau la baza marii descoperiri care a marcat o eră nouă în medicina curativă, *era antibioticelor*.

În natură, aproape că nu există mediu în care o specie microbiană să se dezvolte mult timp singură, fără apariția altora ; în depozitele de materie organică din sol, ape naturale și reziduale (fecalo-menajere), în alimente, în cavitățile naturale ale organismelor superioare (intestin), m. trăiesc în cele mai variate și variabile asociații.

Procesul istoric de conviețuire în asociații a dus la stabilirea unor relații care merg de la *indiferență* pînă la *simbioză*, sau *antagonism*. Aceste relații sînt greu de studiat, deoarece niciodată condițiile de laborator, singurele care permit astfel de cercetări, nu pot realiza complexitatea celor naturale, cu rol important în selectarea și menținerea speciilor. Exemplul clasic, humusul, masa de materie organică reziduală cu structură coloidală, rezultată din descompunerea materiei organice în condițiile solului, nu a putut fi niciodată obținut în condiții de laborator. În laborator, se pot urmări, cel mult, influențe reciproce în culturi mixte, în timp ce în natură asociațiile de m. se modifică continuu. Ceea ce putem surprinde prin studii experimentale, cu tehnicile actuale, sînt numai momente ale unor procese de o mult mai mare complexitate.

A. COMENSALISM

Între două specii care trăiesc în același mediu se pot stabili relații de *comensalism (metabioză* sau *favorizare)* ; unul din partenerii asociației profită de asociere, celălalt fiind indiferent. Astfel de relații au fost puse în evidență între două bacterii ; exemplu, *fenomenul de satelitism* între stafilococii aurii și specii *Haemophilus* : coloniile de *H. influenzae* cresc mai mari în vecinătatea coloniilor de *Staph. aureus* care difuzează în mediu un produs ce reprezintă un important factor de creștere pentru *H. influenzae* ; fenomenul are aplicații în diagnosticul de laborator pentru izolarea și identificarea acestui condiționat patogen (v. cap. *H. influenzae*).

B. SIMBIOZĂ

Specii asociate care se *favorizează reciproc*, relații care în cazuri rare merg pînă la imposibilitatea speciilor asociate de a se dezvolta independent: acidularea produsă de bacterii lactice creează condiții favorabile pentru drojdii, iar drojdiile consumînd acid lactic favorizează înmulțirea în continuare a b. lactici care, sub anumite limite de *p*H, și-ar autoînceta dezvoltarea. *Sînt relații care stau la baza echilibrului normal în nișa ecologică reprezentată de colon, echilibru de care depinde în foarte mare măsură starea de bine a organismului, sănătatea.*

C. SINERGISM

Exemplele de sinergism sau cooperare sînt numeroase la microorganisme care cresc în asociații: dezvoltîndu-se în același mediu de cultură sau mediu ecologic natural, două sau mai multe m. produc un rezultat metabolic final pe care, separat, nici una din ele nu l-ar putea produce; în organism, *rezultatul unei astfel de asociații poate fi o boală* pe care nici unul din partenerii asociației nu ar putea-o provoca singur; un astfel de exemplu este gangrena gazoasă, boală dată de o asociație de bacterii anaerobe favorizate în dezvoltare de existența de bacterii aerobe etc.

D. PARAZITISM

Relații în cadrul cărora unul din membrii asociației pătrunde în corpul celeilalte specii care suferă:

virusuri care parazitează bacterii, *bacteriofagi*,

virusuri care parazitează fungi, *actinofagi*,

bacterii care parazitează fungi,

bacterii care parazitează protozoare,

bacterii care parazitează bacterii: specii din genul *Bdellovibrio*, ca *B. bacteriovorus*, gram-negativ, parazitează specii gram-pozitiv sau gram-negativ; parazitismul poate fi obligator sau facultativ și are specificitate de gazdă *(Clostridium, Rhodospirillum, Streptococcus, Lactobacillus)*; pătrund și se înmulțesc între perete și m. c. p.; prezente în sol, apă; consecințele pentru gazdă încă nestudiate (fig. 40). Mai bine studiată este parazitarea bacteriilor de către virusuri; relație cu diferite consecințe pentru bacterie: (i) moartea bacteriei (bacteriofagie) sau (ii) modificări genetice (transducție, conversie lizogenică; v. cap X).

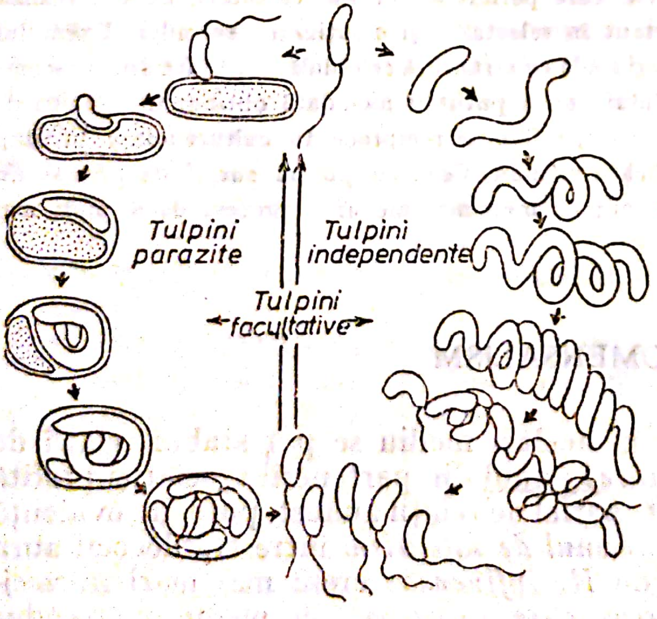


Fig. 40: Parazitism bacterie-bacterie:
Bdellovibrio bacteriovorus parazitează, facultativ, unele specii gram-negativ și gram-pozitiv; stg. ***B.bacteriovorus*** pătrunzînd în ***E. Coli***; reprezentare schematică a ciclului de viață parazitar în și independent de bacteria gazdă (***Bergey's Manual***, 1975).

Bacteriofagii au fost descoperiți cu ocazia cercetărilor privind fenomenul de autopurificare a apelor naturale poluate cu ape fecalo-menajere (v. cap. V) de către *Twort* în 1915 și a cauzei formării plajelor de liză în culturi de bacterii intestinale (*d'Herelle*, 1917). Contribuții importante a adus savantul român *Mihai Ciucă*, începînd din 1920. Deoarece cel mai spectaculos fenomen determinat de aceste virusuri, și primul descoperit, a fost liza bacteriilor, au fost numiți bacteriofagi ,,mîncători de bacterii''.

Habitat. Bacteriofagii sînt prezenți peste tot unde există bacterii receptive, în conținut intestinal, în ape, sol etc.

Aspect și structură. Văzuți la m.e. cei mai mulți fagi au formă de cireașă : ,,capul'' conține ADN dublu spiralat (sau ARN) cu un înveliș proteic (capsidă) ; ,,coada'' este un cilindru rigid într-un manșon proteic contractil, terminat cu o placă hexagonală și șase fire (descrierea corespunde fagului T, al *Esch. coli*).

Specificitatea fag-bacterie. Atașarea fagului la peretele bacteriei este un fenomen specific determinat de existența unor receptori *de perete*, specifici speciei sau tipului (componentă a stratului superficial al peretelui). Această specificitate este de tip enzimatic, între substratul chimic bacterian (receptorul de perete) și enzima cozii fagului. Ca urmare, un anumit fag se atașează la o anumită specie bacteriană : fagul tific se fixează pe bacilul tific.

1. BACTERIOFAGIA ȘI FAGUL VIRULENT

Adsorbția unor fagi la perete este urmată de liza limitată a stratului bazal printr-o enzimă similară lizozimului, *muralizină* ; apoi manșonul cozii se contractă și cilindrul rigid străbate peretele, ADN-ul fagic este ,,injectat'' în citoplasma bacteriei (fig. 41) ; capsidele rămîn afară, goale (ca ,,fantome'' fagice). După un ciclu care începe cu o fază de ,,eclipsă'', în care nu se văd corpusculi virali, dar în care are loc un proces activ de sinteză a componentelor fagice, care apoi se asamblează, în interiorul bacteriei apar sute de corpusculi fagici maturi* ; eliberînd la rîndul lor muralizina, lizează peretele — din interior — și fagii se eliberează, bacteria se dezintegrează ; fagii liberi parazitează și lizează alte și alte bacterii (fig. 42).

Fagul capabil să lizeze bacteria este numit virulent sau litic ; bacteria care poate fi lizată este numită lizosensibilă.

Punerea în evidență a fenomenului de bacteriofagie

(i) Ca și în *mediul lichid* natural (apa), în tubul cu o cultură tînără de bacil tific în bulion (de exemplu), tulbure ca aspect, în care este însămînțat fagul specific, se constată o rapidă limpezire prin dispariția bacteriilor ; *mediul devine o suspensie pură de corpusculi fagici.*

---

* Procesul de sinteză a virusurilor în *Partea a V-a*.

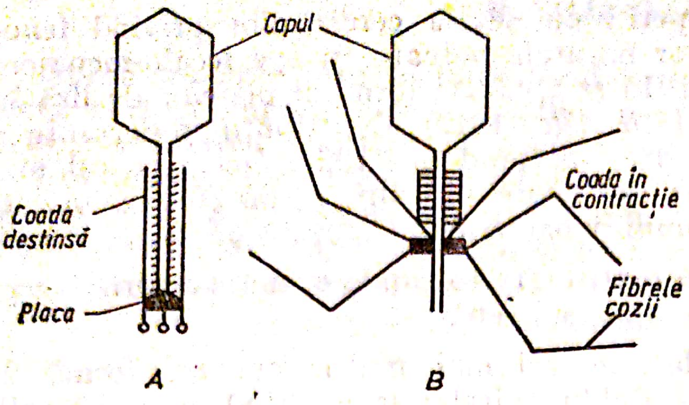
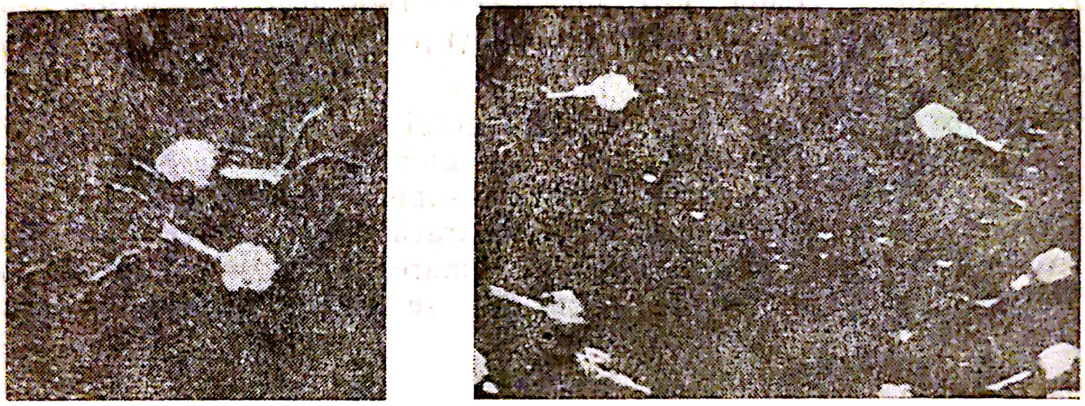


Fig. 41: Reprezentare schematică după *Horne* și *Wildy*, 1963, a fagului T_2 intact (A) și „contractat" (B); (C) colifagi, electronofotografie ×100 000 (după *Burrows*, 1964, p. 78).



(ii) Prezența și densitatea lor poate fi controlată pe *medii solide* în plăci Petri, însămînțate cu bacilul tific; diluții decimale din suspensia de fag în bulion sînt depuse pe cîte o placă. Bacilul tific determină o cultură, în pînză, pe toată suprafața gelozei, exceptînd ariile unde a ajuns un corpuscul fagic și s-a produs liza bacteriilor, *plaje de liză*; numărul de plaje date de o anumită diluție permite calcularea densității corpusculilor fagici în tubul inițial (fig. 42).

Aplicații practice

a) **Lizotiparea**, o metodă de identificare de tulpină bacteriană (v. cap. I), este deosebit de importantă în diagnosticul microbiologic de interes epidemiologic. Caracteristic unor *fagi litici specifici de specie bacteriană*, este marea adaptabilitate enzimatică la variate tipuri existente în sînul speciei lizosensibile; aceasta permite transformarea lor în *fagi litici specifici de tip*: un fag tific, adaptat la creștere pe o tulpină aparținînd unei anumite variante a b. tific, devine practic incapabil să lizeze alte variante ale aceleiași specii. Pentru anumite specii (b. tific, piocianic, difteric, enterococ, stafilococ, b. Koch etc.) s-au obținut (prin selectare și antrenare) seturi de fagi cu specificitate de tip; ei subclasifică specia respectivă în *lizotipuri*, sau *tipuri fagice*.

Identificarea lizotipului în scop epidemiologic se face prin *metoda plajelor*: tulpina de identificat este însămînțată pe geloză în cutie Petri; fiecare fag din setul de fagi (antistafilococici) este depus pe suprafața gelozei; citirea după 24 de ore a plajelor apărute permite determinarea tipului fagic (un lizotip de stafilococ poate fi lizat de un singur fag, sau de mai mulți; (v. fig. 105).

Lizotiparea este cel mai fin test de diferențiere a tulpinilor din sînul aceleiași specii ; are aplicații în epidemiologie, permițînd punerea în evidență a filiației cazurilor de îmbolnăvire ; exemple :

(i) epidemii și endemii de *febră tifoidă* ; dacă se demonstrează că un același lizotip de bacil tific a dat toate îmbolnăvirile dintr-un focar, înseamnă că sursa de infecție este unică : de obicei, un fost bolnav devenit purtător cronic ; lichidîndu-se sursa prin realizarea sterilizării bacteriologice, poate fi stinsă epidemia ;

(ii) tulpinile izolate de la bolnavii cu infecții stafilococice apărute într-o secție de spital (chirurgie) aparțin aceluiași tip fagic ; se trage concluzia că în secție există o sursă de infecție, un purtător care contaminează bolnavii cu o tulpină periculoasă, selectată. Dacă infecții cu același lizotip se succed o perioadă mai lungă de timp, înseamnă că purtătorul face parte din cadrele de spital, etc

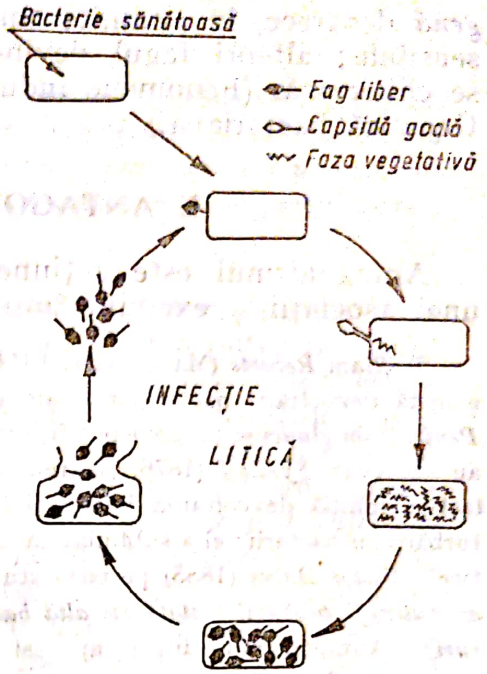


Fig. 42 : Ciclul infecției fagice litice (după *Stanier*, 1963, p. 158).

Această observație obligă la depistarea activă a purtătorului sănătos al aceluiași lizotip care este sursa de contaminare.

Dacă există mai mulți purtători ai lizotipului epidemigen, inclusiv un chirurg, iar infecțiile apar după intervenții pe zone sterile, înainte de prima schimbare a pansamentului (de exemplu), se trage concluzia că sursa de contaminare este chirurgul și contaminarea a avut loc în timpul operației (cel mai adesea prin picături Pflügge). Dacă se cercetează, se pot constata omisiuni sau defecțiuni privind : modul de confecționare a măștii (număr de straturi, formă), modul de purtare a măștii (fără a acoperi nasul), conversații nenecesare în timpul operației, sau altele. Dacă infecția apare după primul pansament, sursa este în sala de pansamente (etc.). *

b) **Terapia cu bacteriofag** a fost o speranță care nu s-a concretizat suficient pînă la descoperirea chimioterapicelor și antibioticelor, iar rezultatele date de acestea au făcut ca studiul fagilor în scop terapeutic să fie practic abandonat.

2. FAGUL TEMPERAT

Există fagi care au capacitate de atașare și pătrundere în bacterie, dar nu determină liză ; ei persistă fie independent în citoplasmă *(episomi)*, fie integrați în ADN-bacterian *(profag)*, replicîndu-se odată cu acesta. *Astfel de fagi sînt numiți temperați, iar bacteria purtătoare este numită lizo-*

---

* Același raționament se aplică indiferent care este specia infectantă (piocianic, ...)

genă deoarece, în anumite condiţii, ea poate ceda fagul unei celule lizosensibile; alteori fagul devine virulent, se maturează, se înmulţeşte şi se eliberează. (Fenomene induse de fagul temperat sînt discutate în cap. Genetică bacteriană.)

E. ANTAGONISMUL SAU ANTIBIOZA

Antagonismul este acţiunea defavorabilă pe care unul din membrii unei asociaţii o exercită împotriva altuia, altora.

William Roberts (Manchester, 1874) a menţionat că dezvoltarea fungilor este adesea antagonistă dezvoltării bacteriilor: ,,am observat adesea că lichide în care a crescut luxuriant *Penicillium glaucum* cu greu pot fi infectate cu bacterii". Antagonism între penicilii şi bacterii au observat *Tyndall* (1876), marele *Lister*, chirurg. *Pasteur* (1877—1881) nota că bacteriile lactice inhibă dezvoltarea bacteridiei cărbunoase şi a încercat chiar tratarea cărbunelui şi turbării cu bacterii; el a subliniat că această observaţie ,,oferă cele mai mari speranţe terapeutice". *Victor Babeş* (1885) pe baza studiilor de antagonism a prevăzut că *,,o boală infecţioasă ar putea fi probabil tratată cu altă bacterie" (previziuni ştiinţifice care s-au demonstrat adevăruri).* Antagonismul între m. este aşa de frecvent încît a fost remarcat de majoritatea microbiologilor; *Pasteur* a făcut generalizarea: ,,într-un mediu lichid în care a cultivat un m., cu greu se mai dezvoltă altul".

Antagonismul are cauze diferite:

1. DIFERENŢE DE VITALITATE

Vitalitatea mai mare a speciei ,,antagoniste", dotată cu echipament enzimatic mai bogat comparativ cu specia ,,concurată" (antagonizată) permite primei să epuizeze repede substratul nutritiv şi să inhibe creşterea celeilalte: (a) însămînţarea gonococului şi a stafilococului pe un mediu favorabil ambelor va avea ca rezultat obţinerea unei culturi pure de stafilococ; (b) prezenţa stafilococului şi a altor bacterii în secreţia din care trebuie izolat gonococul face dificilă izolarea acestuia; (c) izolarea gonococului din secreţia contaminată necesită medii selective, la care se adaugă substanţe ce inhibă creşterea speciilor cu vitalitate mai mare (mai bine dotate enzimatic).

2. ANTAGONISM NESPECIFIC

Determinat de eliberarea în mediu de către bacteria antagonistă a unui factor de metabolism cu acţiune toxică neselectivă (acizi, alcooli etc.): toxic asupra altor bacterii, dar şi asupra celulelor organismului superior. Bacteriile acido-lactice inhibă dezvoltarea bacteriilor patogene datorită acidifierii mediului; acest fenomen are loc continuu în intestin, pe mucoasa vaginală, bucală şi chiar pe piele. *Mecinicov* a fost primul cercetător care a militat pentru folosirea iaurtului în scopul înlocuirii terapeutice a florei de putrefacţie din intestin; *administrarea de suspensii de Lactobacillus este considerată azi indispensabilă reconstituirii florei normale în timpul tratamentelor orale cu antibiotice cu spectru larg*: există preparate comerciale de *Lactobacillus acidophilus.*

Antagonismul nespecific este dat de substanţe toxice neselective, asemănătoare antisepticelor şi dezinfectantelor.

3. ANTAGONISM SPECIFIC

Mulţi cercetători au încercat să separe substanţe antimicrobiene valabile pentru terapie, cu acţiune selectivă. În 1896, *Gossio* (Italia) a obţinut prima substanţă cristalizată dintr-o specie de *Penicillium* care inhiba creşterea bacteridiei cărbunoase, dar aceasta a fost ulterior identificată cu acidul micofenolic, agent al antagonismului nespecific, toxic şi pentru celulele organismului superior.

Mult timp a prevalat opinia că, deşi există mulţi antagonişti antimicrobieni de origine microbiană, aceştia sînt prea toxici pentru a putea fi folosiţi pe cale parenterală în terapia infecţiilor. Din această cauză, descoperirea penicilinei a rămas timp de zece ani fără ecou în lumea ştiinţifică, deşi *Fleming* a descris încă din prima sa publicaţie calităţile acestui nou antagonist şi, în primul rînd, lipsa lui de toxicitate pentru organism: *,,antibioterapia modernă s-a născut atunci cînd această substanţă a fost injectată la animalele de experienţă şi s-a constatat nu numai că vindecă infecţiile, dar că posedă şi o lipsă de toxicitate de necrezut'' . . . ,,firul conducător al acestei descoperiri este sintetizat în două cuvinte, toxicitate selectivă'' (Dubos).*

Antagonism specific este numită activitatea antimicrobiană a unor produse de metabolism microbian, netoxice pentru organismele superioare, dar active în concentraţii mici asupra altor microorganisme. Antagonismul specific aparţine unor substanţe de biosinteză cu structuri foarte diferite denumite *antibiotice* (utilizate în terapie) şi altei categorii numite *bacteriocine* (fără utilizare în terapie).

Antibiotice

Sînt substanţe de biosinteză microbiană, cu toxicitate selectivă, netoxice pentru organismul superior, dar toxice pentru anumite specii diferite filogenetic de specia producătoare; foarte diferite ca natură chimică (cap. IX)

Bacteriocine

Sînt produse de biosinteză microbiană cu toxicitate selectivă faţă de tulpini din aceeaşi specie, cel mai adesea, sau faţă de specii foarte înrudite (acelaşi gen, familie); sînt de natură proteică complexă sau polipeptide strîns legate de ,,endotoxine''.

Sînt denumite după specia producătoare: *colicine* (produse de *Esch. coli*), *piocine* (produse de piocianic), *enterocine* (produse de enterococ) etc. (cap. XXV, pag. 409).

Originea antagonismului specific. Dezvoltarea unei specii cu vitalitate redusă în decurs de generaţii, în asociaţie cu m. cu vitalitate mare şi/sau producătoare de substanţe antagonice nespecifice, impune un continuu proces de selecţie în sînul speciei cu vitalitate redusă: selectare de indivizi mai dotaţi cu mecanisme care să le asigure *perpetuarea speciei*: rezistă şi se înmulţesc numai acele specii care posedă *posibilităţi antagonice speciale*, metaboliţi care difuzaţi în mediu au capacitatea de a inhiba în mod specific specii antagoniste prezente în nişa ecologică comună.

Așa se explică de ce actinomycetele, specii cu vitalitate redusă în mediul extern, sînt cele mai producătoare de A.; după *Krasilnicov*, 40% din actinomycete, mai ales specii *Streptomyces*, produc substanțe antimicrobiene. Pe de altă parte, cele mai multe din tulpinele producătoare de A. au fost izolate din medii naturale, cu floră bogată, cel mai adesea din sol, unde concurența este deosebit de mare.

Microorganisme producătoare de antibiotice. După descoperirea penicilinei, produsă de un *Penicillium*, studiul m. din sol a luat o dezvoltare extraordinară. Al doilea succes a fost descoperirea streptomicinei, produsă de *Streptomyces griseus* (*Schatz*, *Bugie* și *Waksman*, 1944), după ce au fost studiate peste 10.000 de tulpini izolate din probe de sol.

Au fost cercetate de atunci nenumărate probe, din toată lumea și în numeroase laboratoare. Din miile de substanțe antimicrobiene obținute, doar cîteva s-au arătat suficient de netoxice și active *in vivo* pentru a putea fi folosite în terapie (tabel 19); practic toate sînt produse de m. sporulate din sol:

Cele mai puțin toxice s-au demonstrat antibioticele biosintetizate de mucegaiuri (peniciline și cefalosporine), penicilinele fiind însă singurele cu adevărat netoxice;

Cele mai multe A., cu toxicități variate, sînt produse de specii *Streptomyces* (macrolide, lincomicină, cloramfenicol, tetracicline, streptomicină, neomicină, viomicină etc.);

Cele mai toxice sînt antibioticele polipeptidice, produse de specii *Bacillus*, puține fiind reținute pentru terapie (polimixine, bacitracina, gramicidina).

BIBLIOGRAFIE

1. BARRET F. F., CASEY J. L., WILCOX C., FINLAND M.: Bacterial phage types and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus*. *Arch. Int. Med.*, *125*, 867–877, 1970.
2. BODEY V. G., LOFTER J. L., BOWEN E.: Protected environment for cancer patients. Effects of an oral antibiotic regimen on the microbial flora of patients undergoing chemotherapy. *Arch. Int. Med.*, 122, 23–30, 1968.
3. BROVE C. C., SANDER E., DONGLEY S.: Bacterial interference. *J. Infect. Dis.*, *128*, 4, 527–533, 1973.
4. EHRENKRANZ N. N.: Bacterial overgrowth. *J. Infect. Dis.*, *123*, 6, 678–679, 1971.
5. ISRAIL A. M.: Bacteriocinele și poziția lor ecologică. *Bacteriol. Virosol. Parazitol. Epidemiol.*, *XXI*, p. 65, 1977.
6. SANDERS E.: Bacterial interference. *J. Infect. Dis.*, 120, 698–705, 1969.
7. SCHÄFFER S.: Microorganismele și mediul. Ed. Acad., București, 1955.
8. SHINEFIELD H. R., WILSON J., RIBBLE J. C., BORIS M., EICHENWALD H., DITTMAR C.: Interactions of staphylococcal colonization. *Am. J. Dis. Child.*, *111*, 1, 15–22, 1966.
9. SPRUNT K., REDMAN W.: Evidence suggesting importance of role of interbacterial inhibition in maintaining balance of normal flora. *Ann. Int. Med.*, *68*, 3, 579–584, 1968.

IX. ANTIBIOTICE

> **„Utilizarea nediscriminată a antibioticelor comportă un pericol de care trebuie să fie avertizaţi studenţii în medicină, medicii, veterinarii, farmaciştii, infirmierele" (1975, *Rapp. sommaires sur les reunions, p. 194, Bureau reg. de l'OMS pour l'Europe).***

Primul antibiotic (A) descoperit a fost *penicilina*; ea corespunde întru totul dezideratului terapeutic: mare activitate antimicrobiană şi lipsă de toxicitate, ceea ce numim *toxicitate selectivă*, rămînînd pînă astăzi singurul A. în adevăr netoxic. Descoperirea penicilinei începe atunci cînd *Fleming* observa într-o cutie Petri haloul de inhibiţie a culturii de stafilococ în jurul unei colonii de *Penicillium notatum**; folosind filtrate de culturi în mediu lichid ale acestui mucegai, a constatat că produsul de biosinteză (i) *este lipsit de toxicitate*, atît asupra leucocitelor, *in vitro*, cît şi în injecţii la animale de experienţă, (ii) *are un spectru larg antibacterian* şi (iii) *a dat bune rezultate în tratamentul* cîtorva infecţii, în aplicaţii locale, la om.

Studiul penicilinei a fost reluat în 1939 (din necesitatea găsirii de noi mijloace terapeutice pentru plăgile de război infectate), de un colectiv de cercetători de la Oxford: *Chain*, *Florey*, *Umbreit*, *Gradner*, *Heatley*, *Abraham*. S-a stabilit, încă o dată, lipsa ei de toxicitate: posibilitatea injectării parenterale în doze de sute de ori mai mari decît doza minimă bactericidă *in vitro*. Primul tratament cu penicilina purificată a fost făcut tot de *Fleming*, în 1942, într-o meningită**; în 1943 era larg utilizată cu rezultate spectaculoase.

Odată făcută demonstraţia că un produs de origine microbiană poate fi injectat, că are acţiune terapeutică imediată, că boli considerate incurabile puteau fi vindecate în 24 de ore, a urmat o stimulare deosebită a căutării de noi antibiotice.

Antibioticele, alături de chimioterapice (Ch) şi de serurile imune, reprezintă arsenalul terapeutic antiinfecţios existent în prezent.

---

* *British J. of Experimental Pathology*, 1929.
** *Times*, 27 august 1942.

Ca mod de acțiune, A., *produse de biosinteză*, seamănă cu Ch., *produse de sinteză chimică*, ceea ce face ca acești termeni să fie folosiți frecvent unul în locul altuia.

Mai mult, cloromicetina, antibiotic, a putut fi purificată, i s-a determinat formula și a fost obținută mai ieftin și mai ușor prin sinteză ca orice chimioterapic, sub numele de cloramfenicol; acidul 6-amino-penicilanic, nucleul de bază al penicilinei, de biosinteză, a putut fi purificat și cuplat într-o a doua etapă, cu diferiți radicali, obținîndu-se derivați cu calități noi, numite peniciline de semisinteză; în prezent se folosesc atît A. de biosinteză, cît și numeroși *derivați de semisinteză* (peniciline, cefalosporine, macrolide, tetracicline, oligozaharide).

Metodologia de cercetare și folosire este aceeași pentru A. și Ch.

A. STABILIREA SPECTRULUI NATURAL ANTIMICROBIAN AL UNUI NOU ANTIBIOTIC

Studiul penicilinei și al sulfamidei a scos în evidență calitățile pe care trebuie să le îndeplinească un bun A., ca și etapele de parcurs în cercetarea unui nou „candidat" la această calitate pentru a i se stabili *spectrul antimicrobian* și *dozele terapeutice.*

Spectrul antimicrobian natural al unui A. este reprezentat de totalitatea speciilor sensibile (stabilit înainte de introducerea antibioticului în terapie).

Un nou A. trebuie să posede un spectru antimicrobian valoros pentru terapie. În etapa actuală, în care există multe antibiotice, dar se știe că numeroase bacterii dobîndesc ușor rezistență la A. și Ch., înțelegem prin *spectru valoros*: A. activ față de specii devenite în procente mari rezistente la multe din antibioticele existente (stafilococi, bacili gram-negativi, mai ales *Pseudomonas* și *Proteus*, bacil Koch); A. activ față de specii pentru care nu există încă A. și Ch. utilizabile în terapie (virusurile), sau există dar sînt prea toxice (ca cele antifungice).

O specie este considerată sensibilă la un A. dacă este inhibată sau omorîtă de doze ce pot fi ușor atinse și depășite în organism (sînge, alte umori, țesuturi); spectrul antimicrobian este condiționat de toxicitatea și difuzibilitatea produsului în țesuturi și umori, și de timpul de înjumătățire (inactivare și eliminare din organism). Ca urmare, într-o primă etapă se stabilește activitatea antimicrobiană a substanței *in vitro*, determinînd *concentrația minimă inhibitorie* (CMI) sau și *concentrația minimă cidă* * (CMC) față de m. patogene. Se determină apoi *doza minimă toxică* (DmT) pe animal. Dacă DmT este de cel puțin zece ori mai mică decît CMI, produsul poate intra în experimentare clinică.

CMI, concentrația minimă inhibitorie, este o valoare ce se stabilește *in vitro* **: întîi, prin antibiograme difuzimetrice (pe medii solide), se determină dacă noua substanță are un spectru antimicrobian de interes terapeutic. În caz afirmativ, se stabilește față de fiecare specie, prin metoda diluțiilor, antibiograme cantitative, CMI (cantitatea cea mai mică de A. care inhibă creșterea unui *inoculum* definit). CMI a unui A. pentru o specie dată (*Staph. aureus*) este o valoare determinată pe un număr de tulpini valabil ca eșantion statistic, exprimată în micrograme (µg) pe unitatea de volum (ml).

---

* De la latinescul *caedere* = a omorî.

** Pentru bacteriile care nu cresc pe medii artificiale (*Rickettsia*, *Chlamydia*, bacilul leprei), ca și pentru virusuri, stabilirea CMI este foarte laborioasă și se face pe culturi celulare, embrion de găină, sau inoculare la animale, după caz.

CMC, concentrația minimă cidă, se stabilește prin reînsămînțarea pe medii fără antibiotic a tuburilor în care a avut loc inhibarea creșterii. În cazul efectului *cid*, reînsămînțările rămîn sterile; în cazul efectului *static*, se obțin subculturi, bacteriile repuse în condiții optime de creștere în absența antibioticului își reiau înmulțirea.

Pentru ca antibioticul să fie valabil pentru terapie, aceste doze CMI și CMC, trebuie să se demonstreze netoxice pentru animal:

DmT, doza minimă toxică, este o valoare dedusă din *doza letală acută* 50% (concentrația de A. care omoară 50% din animalele injectate) și din experiențe de *intoxicare cronică* (injectare repetată de doze subletale și urmărire în timp). DmT delimitează doza terapeutică experimentală, care poate fi injectată în organism fără riscuri; aceasta nu trebuie să depășească a zecea parte din DmT (poate să fie mai mică). Ca urmare, $\frac{\text{DmT}}{10}$ este convertită în doze terapeutice experimentale (mg/kg.corp și doze zilnice) care sînt injectate la animal. Se determină apoi concentrația de A. care este atinsă în sînge cu astfel de doze (valoare dependentă de difuzibilitatea și timpul de înjumătățire al antibioticului, care impun ritmul injectărilor); nivelul sanguin mediu, raportat în număr de CMI/ml de ser, este calculat pe eșantioane de seruri statistic valabile, recoltate la variate intervale de la injectarea animalelor.

Definirea speciei ca natural sensibilă (S) sau rezistentă (R): raportînd nivelul seric mediu de A./ml la CMI/ml este dedus gradul de sensibilitate al speciei studiate; dacă nivelul seric mediu este constant mai mic decît CMI, specia este considerată R, dacă nivelul seric este constant superior CMI, bacteria este considerată natural S;

nivel seric mediu < CMI = bacterie rezistentă (R),

nivel seric mediu > CMI = bacterie sensibilă (S);

cu cît diferența dintre aceste două valori este mai mare, cu atît și sensibilitatea bacteriei este mai mare (NEI este mai bun).

Nivelul de eficiență inhibitorie (NEI) este o valoare care se stabilește prin terapie, în două etape experimentale:

(i) *experimentul pe animal infectat* cu număr de doze letale determinat, stabilește dacă nivelul mediu de antibiotic permite supraviețuirea a 50% (sau 100%) din animale;

(ii) *experimentul clinic*, pe bolnavi, este ultima etapă a cercetării unui nou A. înainte de a fi generalizat în terapie și comercializat, și se face:

— în baza unui diagnostic etiologic precis (clinic și/sau microbiologic);

— în raport de tipul de infecție (septicemii și meningite — marile urgențe terapeutice, infecții ale tractusului urinar, biliar etc.);

— cu verificarea microbiologică a sterilizării organismului de bacteria infectantă (cînd este posibil).

Aceste verificări sînt, de asemenea, statistic evaluate.

Un NEI bun trebuie să asigure sterilizarea *cît mai rapidă* a organismului de specia infectantă; cu cît sterilizarea microbiologică are loc mai repede, cu atît instalarea leziunilor definitive (indelebile) este prevenită. Pentru sugari și copii mici, această eficiență în caz de meningite-encefalite nu poate fi evaluată decît la distanță de ani de zile, uneori numai la vîrsta școlarității. Subliniem acest lucru deoarece există la unii practicieni tendința micșorării dozelor stabilite prin experiment, dar: (i) orice modificare a dozelor spre valori minime înseamnă asumarea riscului ineficienței terapeutice (chiar dacă se obține sterilizarea bacteriologică) și a selectării de mutanți tot mai rezistenți; (ii) orice depășire a dozei terapeutice maxime înseamnă asumarea riscului toxicității (excepție face penicilina). De aceea, astfel de modificări trebuie judicios evaluate, conform citatului: „Indicele terapeutic este calculul rației *risc/beneficiu*, care trebuie evaluat scrupulos atît imediat, cît și la distanță de ani de la evenimentul acut" (*J. Inf. Dis.*, 1976, *133*, Suppl. June, p. A. 101).

Experimentul clinic a demonstrat că un nivel seric egal cu 4—8 CMI/ml asigură o bună eficiență terapeutică, cu sterilizarea rapidă a organismului de bacteria infectantă. Aceste concentrații sînt convertite la rîndul lor în doze terapeutice, pentru om.

B. SPECTRUL DE SENSIBILITATE NATURALĂ A SPECIILOR

Spectrul de sensibilitate naturală a unui microorganism este reprezentat de totalitatea A-lor și Ch-lor față de care toate tulpinile speciei se demonstrează sensibile anterior introducerii în terapie a fiecărui nou produs.

C. REZISTENȚA DOBÎNDITĂ A BACTERIILOR ȘI SPECTRUL DE SENSIBILITATE REALĂ A SPECIILOR

Odată cu utilizarea tot mai largă a A. în terapie și mai ales în profilaxie, ceea ce s-a demonstrat cel mai adesea o greșeală, s-a constatat o continuă modificare a spectrului de sensibilitate naturală; tot mai multe tulpini de stafilococi, b. Koch, b. gram-negativ, gonococi, devin rezistenți sau multirezistenți la A. Modificarea acestei sensibilități este un (a) *proces de variație genetică* prin mecanisme foarte diferite, care duc la apariția de *indivizi bacterieni rezistenți*, în populații aparținînd unor specii natural sensibile și (b) *un proces de selecție sub influența terapiei*, și mai ales a profilaxiei, a acestor indivizi rezistenți și transformarea lor în *tulpini rezistente:* A. omoară populația sensibilă, permițînd înmulțirea mutanților rezistenți și, astfel, apar populații sau tulpini *în totalitate rezistente la antibiotice* (cap. X).

Aceste fenomene au dus deja la o enormă diversificare a sensibilității față de A. în sînul speciilor supuse acestor fenomene de dobîndire a rezistenței. Procentul de tulpini rezistente în sînul unei specii, variază de la o zonă geografică la alta, chiar de la un spital la altul din aceeași localitate, în raport cu frecvența folosirii antibioticului respectiv. Există specii în sînul cărora fiecare tulpină își are propriul său spectru de sensibilitate, care poate fi aflat numai prin *antibiogramă*; există însă și specii pentru care spectrul de sensibilitate naturală nu s-a modificat, s-a modificat puțin, ori nu este încă bine precizat; pentru unele specii, procente foarte mari de tulpini au devenit multirezistente la A., ele reprezintă reale probleme terapeutice (tabel 18).

Mecanisme de rezistență (R) *a bacteriilor la A.* și *Ch.*: Singurul mecanism de R mai bine cunoscut este *rezistența enzimatică;* majoritatea stafilococilor, a unor enterococi, colibacili, gonococi etc. sînt rezistenți la penicilină prin producere de penicilinază, enzimă care inactivează penicilina.

Fără ca enzimele de inactivare a altor A. să fie la fel de bine cunoscute ca penicilinaza, este demonstrat că rezistența căpătată și față de alte A. este adeseori tot enzimatică.

Alte mecanisme de rezistență evidențiate la bacterii sînt *modificări de permeabilitate* a învelișurilor, deviere de căi metabolice interferate de A. la bacteria sensibilă.

D. STABILIREA SENSIBILITĂȚII REALE A TULPINII INFECTANTE;

teste de conducere științifică a antibioticoterapiei

Consecutiv utilizării în terapie a unui nou A. sau Ch., se constată că în sînul multor specii natural sensibile apar treptat procente tot mai mari de tulpini rezistente (rezistență dobîndită). Pentru astfel de tulpini, sensibilitatea naturală (aceea înscrisă în prospecte) nu mai coincide cu cea reală. În terapia infecțiilor date de astfel de specii (v. tab. 18), trebuie verificată susceptibilitatea la A. și Ch. a fiecărei tulpini infectante, și de asemenea, cînd infecția este dată de bacterii accidental patogene pentru care CMI nu este cunoscută.

În plus, concentrațiile active terapeutic nu se realizează în aceeași măsură la toți bolnavii, în timp ce la alții există pericolul supradozării, acumulării de doze toxice. De aceea, o terapie științifică se bazează pe teste special adaptate :

Tabelul 18

Spectre de sensibilitate naturală (S.S.n.) și reală la antibiotice a cîtorva specii bacteriene

1. Bacterii cu S.S.n. nemodificate :
   Treponema pallidum,
   Rickettsia spp.,
   Leptospira spp.,
   Streptococcus β-hemolitic grup A, numai pentru peniciline ;
2. Bacterii cu S.S.n. puțin modificate :
   Streptococcus pneumoniae,
   Salmonella typhi,
   Brucella,
   Bacillaceae,
   Actinomyces spp.,
   Chlamydia.
3. Bacterii cu S.S.n. foarte modificate :
   a) *Staphylococcus aureus*,
      Mycobacterium tuberculosis,
      Enterobacteriaceae,
      Neisseria spp. ;
   b) bacterii problemă terapeutică :
      Pseudomonas aeruginosa,
      Proteus spp.,
      Klebsiella pneumoniae.
4. Multe specii accidental patogene au S.S.n. neprecizate, trebuind determinate prin antibiogramă.

Testul de sensibilitate la antibiotice sau antibiograma

— *antibiograma difuzimetrică:* discuri conținînd cantități determinate de A sînt depuse pe plăci cu mediul Mueller-Hinton, însămînțate cu un *inoculum* cu densitate standard din tulpina de testat ; diametrul zonei (care a fost corelat cu CMI de A. ce poate fi obținută în ser, urină și alte umori) indică gradul de susceptibilitate al tulpinii, ca sensibilă (S)*, moderat sensibilă (MS)** sau rezistentă (R)*** ; erorile posibile de tehnică în antibiograma difuzimetrică sînt eficient corectate prin utilizarea concomitentă a tulpinilor de referință, ca martori de sensibilitate (metoda *Stokes*, recomandată de *M. Balș*) ;

---

* Nivel seric mediu > CMI ;
** Nivel seric mediu = CMI ;
*** Nivel seric mediu < CMI.

— *antibiograma cantitativă*; metoda diluțiilor în mediu lichid are avantajul că permite verificarea CMC (prin însămînțarea tuburilor în care creșterea a fost inhibată, pe medii fără A.); metoda diluțiilor în mediu solid are avantajul că permite vizualizarea mutanților rezistenți, a eventualelor colonii de contaminare, permite folosirea mediilor îmbogățite cu sînge (pentru *H. influenzae*, *Neisseria sp.*);

(oricare din aceste metode poate fi utilizată pentru aerobi și pentru anaerobi);

— se recomandă, de asemenea, practicarea de teste pentru producere de β-lactamoză, care pot pune rapid în evidență tulpini rezistente la penicilinele G și V, la ampicilină, pyopen și cefalosporine; testul iodometric rapid (în 5 minute), folosind colonii de 12—24 ore;

— exceptînd asociațiile de antibiotice sinergice cu indicații speciale (în text), acțiunea sinergică poate fi cercetată prin antibiograme speciale.

Dozarea concentrației de antibiotic în ser

Aceasta este necesară la bolnavii la care există *pericolul cumulării de doze toxice*: tratamente de lungă durată (ca endocardite subacute, tuberculoză etc.), cu antibiotice cu grad propriu de toxicitate* (pentru care raportul CMI/DmT este mic, sub 1/10) și la bolnavii cu deficiențe de epurare renală. Concentrația serică de A. nu trebuie să depășească valorile indicate de experimentul pe animal și clinic (tab. 19).

Folosind diluții de A. (cu concentrații cunoscute) și diluții de ser (din sînge recoltat înainte de administrarea unei noi doze de A.), se determină cele mai mari diluții care inhibă creșterea unui *inoculum* (egal în toate tuburile) din tulpina de referință (sensibilă):

— cea mai mare diluție de A. care a inhibat creșterea indică valoarea CMI în μg/ml;

— cea mai mare diluție de ser care a inhibat creșterea conține de asemenea 1 CMI și permite astfel calcularea concentrației de A. pe ml de ser (înmulțind valoarea CMI cu inversul diluției de ser); valoarea optimă nu trebuie să depășească valorile din tabelul 19 fără a apare pericolul supradozării.

Nivelul de eficiență inhibitorie (NEI)

Acest test verifică dacă prin dozele de A. administrate se realizează concentrații eficiente terapeutic, deoarece subdozarea este totdeauna periculoasă (v. subcap. C).

Determinarea este necesară la bolnavii la care difuzibilitatea și concentrarea A-lui în sînge și mai ales în lichide din focare localizate de infecție (l. c. r., lichid pleural, peritoneal, articular etc., bilă, urină) poate fi modificată, și pentru A. nou introduse în terapie insuficient experimentate clinic din acest punct de vedere.

---

* Cloramfenicol, tetracicline, aminoglicozide (G, K, N, S), amphotericin B; practic toate antibioticele în afară de penicilinele de biosinteză și cefalosporine.

NEI poate fi calculat din concentrația serică și CMI, cînd aceste valori sînt determinate față de bacteria infectantă, și este reprezentat de raportul $\frac{\textit{concentrația serică}}{\text{CMI}}$ (vezi subcapitolul anterior). Experiența clinică a demonstrat că eficiența terapeutică este asigurată cînd valoarea acestui raport este în jur de 4—8 (ceea ce înseamnă 4 pînă la 8 doze egale cu CMI/ml de ser).

Determinarea activității bactericide a serului

Este un test simplificat (care înlocuiește testul 2 și 3, iar în terapiile de urgență este efectuat concomitent cu antibiograma), care măsoară eficiența terapeutică a A. din ser sau alte umori (l.c.r., lichide din seroase etc.); este util pentru bolnavii la care calcularea concentrației serice nu se impune.

Se fac 4—5 diluții duble de ser, se însămînțează cu un *inoculum*, egal, din bacteria infectantă și sînt incubate peste noapte; diluțiile care au inhibat creșterea sînt trecute pe medii fără A. pentru a determina și efectul bactericid. Experiența clinică a demonstrat că eficiența terapeutică este asigurată la bolnavii la care serul se demonstrează bactericid în diluții de minimum 1/4—1/8 (echivalent cu 4—8 doze egale cu CMI/ml de ser).

Reiese în adevăr că în ceea ce privește antibioterapia „Soluția problemei nu este ușurată de apariția pe piață de noi antibiotice, adesea administrate alandala și fără prescripție medicală, pentru a vindeca răni infectate, intoxicații, dureri de gît și chiar guturai" (*Guthe T.*, Santé du Monde, OMS, oct. 1971, 30—35), ci de utilizarea corectă a celor existente.

E. EFECTELE ANTIBIOTICELOR ASUPRA MICROORGANISMELOR

a) **A. bacteriostatice** sînt structuri chimice asemănătoare unor compuși bacterieni, care acționează prin inhibare competitivă, și care pot fi ușor *reînlocuite* de substratul normal cu care se află în competiție în prezența acestuia în exces. (Această situație se poate crea în focare infecțioase avansate, cu liză importantă a celulelor și țesuturilor, în care pot fi prezente și produse care participă într-o etapă ulterioară a aceleiași secvențe metabolice, putînd restaura creșterea bacteriei.) *Subdozarea antibioticelor bacteriostatice favorizează reversia și totodată selecția de mutanți tot mai rezistenți, realizarea NEI în focarul infecțios pe toată durata tratamentului este obligatorie:* peniciline, cefalosporine, oligozaharide, pristinamicină, polimixine, bacitracină.

b) **A. bactericide** inhibă formarea unor molecule pe care bacteria nu le poate înlocui cu ușurință, fiind fie structuri sau căi enzimatice specific bacteriene, cazul peretelui bacterian, fie structuri de prea mare importanță pentru vitalitatea celulei, cazul membranei citoplasmatice sau al DNA (v. subcapitolul următor). Subdozarea antibioticelor bactericide le transformă în bacteriostatice și duce, de asemenea, la selecția de mutanți tot mai rezistenți: cloramfenicol, tetracicline, cicloserină, macrolide, lincomicină, clindamicină.

F. MECANISME DE ACȚIUNE ANTIMICROBIANĂ A ANTIBIOTICELOR

Spre deosebire de dezinfectante și antiseptice, antibioticele și chimioterapicele sînt active numai în faza de înmulțire activă a bacteriilor (cu excepția polimixinelor).

Cu cît structura chimică sau calea enzimatică interferată este mai specific microbiană, cu atît antibioticul se demonstrează *mai puțin toxic.* De aceea, în programul de sinteză de noi Ch. și obținerea de noi A. de semisinteză, pe primul plan se află ,,laboratoare de anatomie și fiziologie microbiană comparată". Funcția lor este de a descoperi *diferențe de structură și funcție între microbii patogeni și celula organismului de tratat, și de a obține analogi ai acestor structuri diferențiale,* capabili să interfereze țintit metabolismul microbian, fără a altera (intoxica) organismul.

Datele de pînă acum permit doar încercări de clasificare a antibioticelor în raport cu mecanismul prin care inhibă dezvoltarea microbilor:

a) **Antibiotice care inhibă sinteza peretelui**

Peniciline	bactericide	*Ristocetină*	bactericid
Cefalosporine	bactericide	*Cicloserină*	bacteriostatic
Vancomicină	bactericid	*Griseofulvină*	fungicid

Aceste A. interferează sinteza peptidoglicanului prin mecanisme diferite; sînt în special active asupra bacteriilor gram-pozitive la care stratul superficial este ușor penetrat de A; nu au acțiune asupra bacteriilor cu perete alterat (cap. II).

Cicloserina interferează biosinteza precursorilor peptidoglicanului, stadiu care are loc în citoplasmă; funcționează ca inhibitor competitiv al D-alaninei.

Vancomicina, ristocetina și *bacitracina* interferează al doilea stadiu al sintezei peptidoglicanului care constă în transferul precursorilor prin m. c. p. spre perete: vancomicina și ristocetina intervin într-o primă etapă; bacitracina intervine în etapa ultimă a aceluiași proces de transfer catalizat enzimatic, determinînd totodată o importantă modificare a permeabilității m. c. p. (ceea ce explică toxicitatea acestui A.).

Penicilinele și *cefalosporinele* acționează prin mecanism similar; ele interferează ultima etapă a sintezei peptidoglicanului, care constă în formarea polimerului prin legarea subunităților polipeptidice, determinînd formare de protoplaști neviabili (acțiune cidă), sau sferoplaști viabili (cînd dozele administrate sînt insuficiente). Aceste mecanisme explică:

— activitatea bactericidă a acestor A. prin șoc osmotic (m.c.p. a protoplastului, neprotejată de stratul bazal al peretelui, cedează la presiunea intracitoplasmatică);

— acțiunea mai bună asupra bacteriilor gram-pozitive cu straturi superficiale mai labile, mai ușor penetrate de A., cu formare de protoplaști foarte sensibili la șoc osmotic, comparativ cu straturile superficiale mai bine organizate la gram-negativi și mycobacterii; pe de altă parte, presiunea intracitoplasmatică la gram-pozitivi este de 4—5 ori mai mare decît la gram-negativi, liza în mediul intern al organismului fiind mai rapidă;

— explică lipsa lor de toxicitate (interferează sinteza unui complex în structura căruia intră componente exclusiv bacteriene, acid N-acetilmuramic).

În cazul A. cu acțiune de perete, *subdozarea duce la transformarea efectului cid în static* (peniciline-cefalosporine în cantități prea mici interferează doar formarea pereților despărțitori ai bacteriilor fiice, nu mai are loc diviziunea; ca urmare: *bacilii* își continuă creșterea ca filamente, *cocii* cresc dînd forme sferoide mari). Cantități moderate de A. determină formarea de sferoplaști, neviabili în condițiile de presiune din sînge, dar care pot supraviețui în mediul hiperosmolar din medula renală (aspecte demonstrate *in vitro* prin echilibrarea presiunii osmotice a mediului ceea ce permite obținerea de generații succesive de sferoplaști); odată cu încetarea terapiei, astfel de supraviețuitori își reiau înmulțirea reactivînd infecția.

Rezistența încrucișată a bacteriilor la peniciline și cefalosporine se explică prin faptul că țintesc aceeași structură; (nu dau rezistență încrucișată cu cicloserina care acționează la alt nivel).

Grizeofulvina este un antifungic care inhibă formarea polimerului *chitină*, echivalentul glicopeptidului bacterian; are acțiune și asupra sintezei proteinelor.

b) **Antibiotice care alterează integritatea membranei citoplasmice:**

Polimixina B	bactericid	*Amphotericina B*	fungistatic/fungicid
Colistina (Po E)	bactericid		
Gramicidina	bactericid	*Nistatin*	fungistatic/ fungicid

Protoplastul bacteriilor și al fungilor este limitat de o membrană similară structural membranelor care delimitează celulele animale. Aceasta explică toxicitatea mare a A. polipeptidice antibacteriene și a A. polienice antifungice.

Polimixinele se adsorb pe m. c. p. perturbînd toate schimburile; acționează de tipul antisepticelor active de suprafață fiind singurele A. active și asupra bacteriilor în fază de latență metabolică; aspect foarte important pentru terapie.

Polienele interferează sinteza ergosterolului, prezent în m. c. p. a fungilor (constituent absent la bacterii), ceea ce explică toxicitatea lor și mai mare, pe cale parenterală (membrana hematiilor conține steroli).

c) **Antibiotice care inhibă sinteza proteinelor:**

Streptomicina	bactericid	*Cloramfenicol*	bacteriostatic
Kanamicina	bactericid	*Macrolide*	bacteriostatice/cide (în raport de conc.).
Neomicina	bactericid	*Lincomicina*	bacteriostatic
Gentamicina	bactericid	*Clindamicina*	bacteriostatic
Pristinamicina	bactericid	*Tetracicline*	bacteriostatice.

Interferează mecanismul de sinteză al proteinelor la niveluri diferite:

Aminoglicozide, pătrund în citoplasma bacteriilor, se leagă de RNA-r, induc copieri greșite ale codului genetic și sinteze de proteine greșite omorînd bacteriile;

— *streptomicina* se leagă la subunitățile 50 S ribozomale și reduce rata sintezei proteinelor, induce proteine greșite (citirea greșită a codonilor de pe RNA-m);

— *neomicina* alterează legătura RNA-t—RNA-m;

— *gentamicina* interferează transferul RNA-m și, totodată, modifică permeabilitatea m. c. p., ceea ce explică toxicitatea mai mare.

Lincomicina și *clindamicina* blochează sinteza proteinei la nivel ribozomial.

Cloramfenicolul intră în competiție cu RNA-m pentru sediile de pe ribozomi.

Tetraciclinele inhibă legarea aminoacyl-RNA-t la RNA-m pe ribozomi și formarea legăturilor polipeptidice.

d) **Antibiotice sinergiste**

Pristinamicina, ca și alte A. din grupa *Mikamicine*, este un A. complex, format din compuși cu acțiune sinergică, de unde și denumirea de *sinergiste*; unul din compuși inhibă sinteza proteinelor probabil la nivelul ribozomilor, altul are acțiune de perete. Această dublă activitate explică frecvența redusă cu care apar mutanți rezistenți față de acest A. și eficiența foarte bună.

e) **Antibiotice care inhibă RNA-polimeraza**

Rifamicinele	bacteriostatic/bactericide
Novobiocina	bacteriostatic/bactericid (în raport de doze);

inhibă formarea de noi lanțuri RNA-m acționînd asupra RNA-polimerazei (fig. 43).

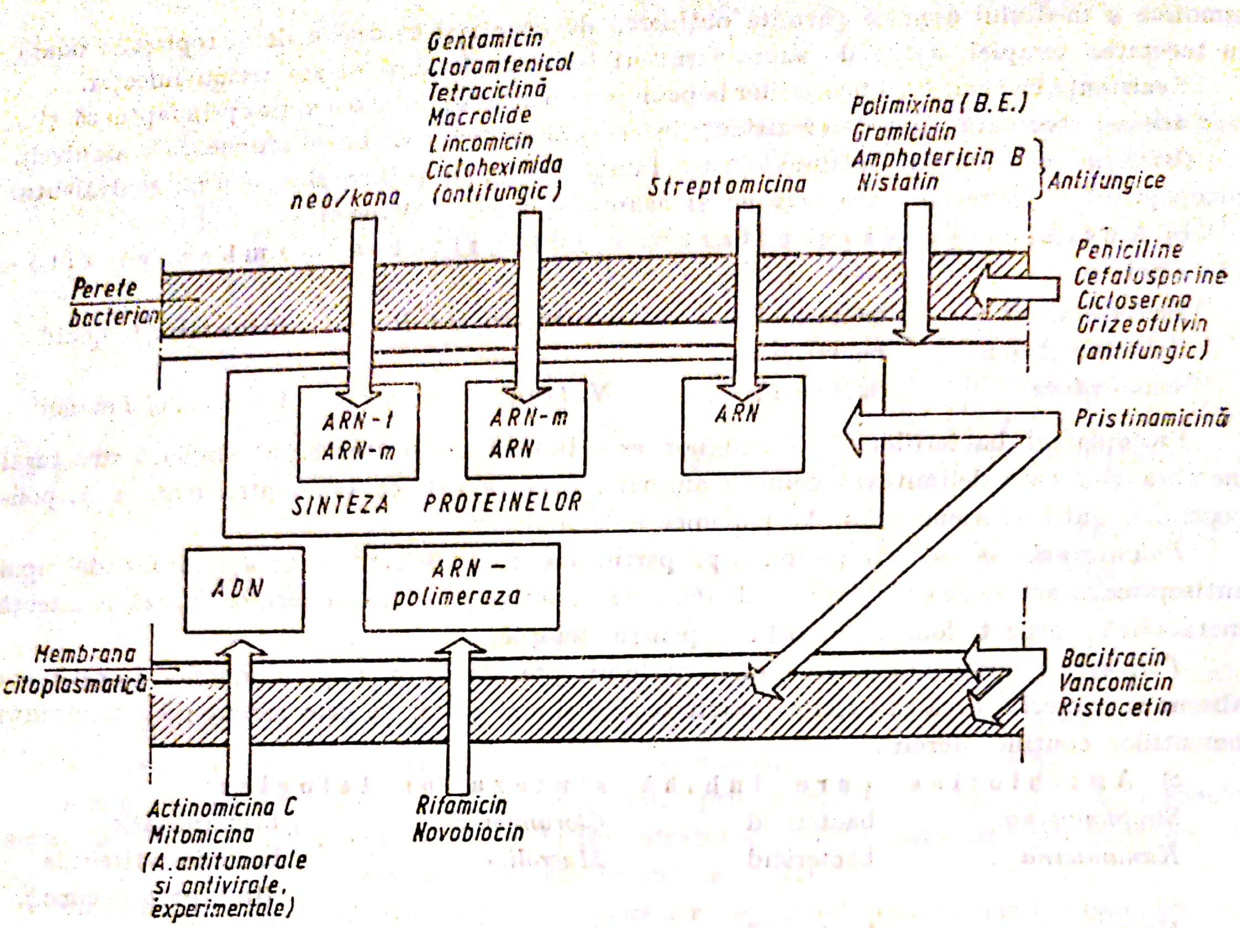

Gentamicin
Cloramfenicol
Tetraciclină
Macrolide
Lincomicin
Cicloheximida
(antifungic)
neo/kana
Streptomicina
Polimixina (B.E.)
Gramicidin
Amphotericin B
Nistatin
Antifungice
Perete bacterian
Peniciline
Cefalosporine
Cicloserina
Grizeofulvin
(antifungic)
ARN-t
ARN-m
ARN-m
ARN
ARN
SINTEZA PROTEINELOR
Pristinamicină
ADN
ARN-polimeraza
Membrana citoplasmatică
Bacitracin
Vancomicin
Ristocetin
Actinomicina C
Mitomicina
(A. antitumorale și antivirale, experimentale)
Rifamicin
Novobiocin

Fig. 43 : Mecanisme de acțiune a antibioticelor.

1) *Antibiotice sinergice.* Unele A. și mai ales acelea care acționează prin mecanisme diferite, manifestă activitate sinergică față de anumite specii, fiind recomandate în asociații în terapia infecțiilor cu tulpini devenite multirezistente și puțin sensibile la fiecare din membrii asociației (în text).

2) *Antibiotice antagoniste.* Unele asociații se demonstrează constant antagoniste. Un astfel de antagonism se manifestă între A. bacteriostatice care oprind înmulțirea — metabolismul — bacteriilor, anulează și efectul A. bactericide active numai în etapa de metabolism activ (minus polimixine) : peniciline asociate cu cloramfenicol sau tetracicline. Alte asociații își anulează efectul în amestec dar se manifestă ca sinergice dacă sînt injectate în sedii diferite (piopen + gentamicină).

3) *Rezistență încrucișată* (Rx). Bacteriile cu rezistența naturală sau dobîndită față de un antibiotic își manifestă rezistența față de antibiotice din aceeași clasă chimică acționînd prin același mecanism antibacterian.

G. CLASIFICAREA ANTIBIOTICELOR ÎN RAPORT CU SPECTRUL ANTIMICROBIAN NATURAL (tabel 19)

Majoritatea A. descoperite pînă în prezent sînt antibacteriene, mai puține sînt *antifungice* și *antiprotozoa* ; unele A. antifungice și unele A. antibacteriene au acțiune și asupra unor protozoare. Nu există încă A.

cu acțiune antivirală cu utilizare în terapie. În categoriile care urmează, A. sînt incluse în raport cu gradul lor de toxicitate, începînd cu cele mai puțin toxice.

1. ANTIBIOTICE ANTIBACTERIENE

Spectrul antibacterian permite gruparea care urmează, dar fiecare A. are și particularități din acest punct de vedere:

a) **Penicilinele de biosinteză și alte antibiotice cu spectru asemănător.**

(i) Penicilinele de biosinteză G și V sînt natural active față de toate speciile gram-pozitiv (cocii, bacilii și actinomycete), cocii gram-negativ, toți anaerobii (excepție *B. fragilis*), *P. multocida*, spirochete (*Treponema pallidum*, *Leptospira*).

Prin cultivare în mediu lichid (cu aerare în profunzime), mucegaiul *Penicillium notatum* sau *chrysogenum* eliberează 4 peniciline (cu unele diferențe chimice); cele mai active antibacterian sînt penicilina G (benzilpenicilina) și V (fenoximetilpenicilina). Prin introducerea de precursori adecvați în mediul de cultură, este favorizată, cu precădere, fie biosinteza de P. G (parenterală), fie P. V (orală); produsele native suportă apoi procese de convertire în săruri stabile solubile și de purificare. Fenoxetilpenicilina (sau feneticilină) are același spectru.

Penicilinele G și V sînt și în prezent antibioticele cele mai larg folosite, după principiul: ori de cîte ori o bacterie este sensibilă la mai multe A. și Ch. inclusiv penicilinele de biosinteză, se folosesc acestea deoarece sînt netoxice, bactericide și ieftine.

Penicilinele (atît cele de bio- cît și cele de semisinteză) dau un mare procent de sensibilizări (2—4%) în tratamente repetate, care în procent foarte mic (1—2$^{0}/_{00000}$) pot fi foarte grave, ca șoc anafilactic; este singurul lor dezavantaj. De aceea, în tratament parenteral repetat se verifică eventuala sensibilizare a bolnavului prin intradermoreacție cu doze mici de P. (0,1—10 μg/ml). O realizare în prevenirea acestor neajunsuri sînt P. purificate tip *Purapen G* din care au fost eliminați metaboliți ca peniciloil și penicilinat, prezenți alături de penicilină (care, combinîndu-se cu proteine serice ar forma compușii antigenici).

Penicilinele de biosinteză sînt distruse de penicilinază; utilizarea lor intensă a determinat selectarea de numeroși stafilococi producători de penicilinază, rezistenți la penicilinele G și V penicilinazo-sensibile.

(ii) Penicilinele de semisinteză rezistente la penicilinază (folosind nucleul activ al produsului de biosinteză al penicilinelor, *acidul 6-aminopenicilanic*, au putut fi obținute P. de semisinteză rezistente la penicilinază); ele reîntregesc spectrul antibacterian al penicilinelor, fiind active și față de stafilococii deveniți rezistenți la P. de biosinteză. Astfel de peniciline de semisinteză sînt:

meticilina (*Staphcilin*), înlocuită practic de *oxacilin*, *nafcilin*, *cloxacilin*, *dicloxacilin*, *difenicilin*.

Se remarcă apariția de tulpini de stafilococi rezistente și la aceste P.; de aceea, indicația lor este restrînsă strict pentru tratarea infecțiilor cu stafilococi rezistenți la penicilinele G și V, depistați prin antibiogramă.

(iii) Macrolidele: *eritromicina* (produsă de *Streptomyces eritreus*), *oleandomicina*, *spiramicina* etc.; au același spectru ca și penicilinele G și V față de bacteriile gram-pozitiv, stafilococii producători de penicilinază, *Mycoplasma*, spirochete. Eritromicina este cea mai activă din acest grup. Bacteriile capătă ușor rezistență care se manifestă pentru întreg grupul și față de lincomicină (rezistență încrucișată).

(iv) Piostacina sau *pristinamicina* (produsă de *Streptomyces pristinaespiralis*), are același spectru ca P. de biosinteză, inclusiv stafilococii producători de penicilinază; fiind A. sinergist, apariția de mutanți rezistenți este redusă; este un foarte prețios antibiotic.

b) **Antibiotice active față de bacterii gram-pozitiv**

(i) Lincomicina, asemănătoare macrolidelor (fără a fi activă față de *Rickettsia*) este *bacteriostatic*: mai puțin toxică decît vancomicina;

(ii) Ristocetina (produsă de *Nocardia lurida*) foarte eficientă în infecții cu coci gram-pozitiv;

(iii) Vancomicina (produsă de *Streptomyces orientalis*), deosebit de activă asupra cocilor și bacililor gram-pozitiv. A. de rezervă pentru infecții cu stafilococi producători de penicilinază și la indivizi sensibilizați la peniciline și cefalosporine; foarte puțin toxică; rezistența dobîndită la vancomicină este încă redusă. Asociată cu aminoglicozide are acțiune sinergică față de enterococ (endocardite);

(iv) Bacitracina (produsă de *Bacillus subtilis*), bactericid, toxic;

(v) Gramicidina (produsă de *Bacillus brevis*), A. polipeptidic, bactericid, cel mai toxic, activ și asupra b. în stare de latență, fiind aplicabil pe mucoase.

c) **Antibiotice active asupra bacililor și cocobacililor gram-negativ.**

Polimixinele (Po) sînt A. polipeptidice, toxice (ca și bacitracina și gramicidina); sînt active asupra bacililor gram-negativ (*Enterobacteriaceae, Pseudomonas*) și a cocobacililor gram-negativ (*Haemophilus, Bordetella* etc.), bacterii rezistente la primele categorii de A; nu sînt active față de specii *Proteus*.

Colistina sau *polimixina E* (biosintetizată de *Bacillus polimixa*) este mai puțin toxică decît Po. B;

Polimixina B sau *aerosporina* (produsă de *Bacillus aerosporus*);

Aremyxina este un derivat de polimixină B mai activ asupra piocianicului, ineficient asupra speciilor *Proteus*.

d) **Antibiotice cu spectru larg.** Din acest grup fac parte numeroase A. cu spectre foarte diferite dar, cu unele excepții, sînt active atît asupra bacteriilor *gram-pozitiv* (coci, bacili, actinomicete), cît și *gram-negativ* (coci și mai ales bacili aerobi și anaerobi); unele sînt active și față de specii *Rickettsia, Chlamydia, Mycoplasma, Myc. tuberculosis* (grupa e).

(i) Peniciline de semisinteză cu spectru larg (nerezistente la penicilinaze) sînt active asupra bacteriilor gram-pozitiv, asupra cocilor gram-negativ, dar mai ales față de bacilii gram-negativ; (activitatea lor diferă însă față de bacilii gram-negativ care reprezintă probleme terapeutice, prin marea lor rezistență la antibiotice în general și rapiditatea cu care dobîndesc rezistență: *Proteus, Klebsiella, Pseudomonas*).

Ampicilina (pembritina) este sensibilă la penicilinază fiind activă numai asupra speciilor sau tulpinilor neproducătoare: bacilii și cocobacilii gram-negativ *(Salmonella, Shigella, Escherichia, Proteus mirabilis* indol-negativ, *Haemophilus)*, bacili gram-pozitiv *(Listeria)*; este mai puțin activă față de *Klebsiella* și inactivă față de piocianic. Este mai puțin activă decît penicilina G față de stafilococi, streptococi, la fel de activă față de pneumococ, meningococ și are acțiune sinergică cu aminoglicozidele față de enterococ.

Metampicilina (ampicilină + formaldehidă), *pivampicilina*, *epicilina* și *amoxicilina*, cea mai bună, sînt derivați de ampicilină rezistenți și la penicilinază.

Piopen sau *carbenicilina* este inactivată de penicilinază, are același spectru ca ampicilina fiind activă și față de piocianic *(pio-pen)*, specii *Proteus* indol-pozitive, enterobacter și multe tulpini de *B. fragilis*; este inactivă față de *Klebsiella* și unele tulpini *Serratia*. Antibiotic de rezervă pentru infecții cu piocianic și *Proteus* indol-pozitiv; are acțiune sinergică cu gentamicina față de piocianic și *Klebsiella* (în administrări separate).

Ticarcilin, un derivat de carbenicilin, este mai activă decît carbenicilina asupra piocianicului și alți bacili gram-negativ.

Penicilinele de semisinteză cu spectru larg alături de cele penicilinazo-rezistente tind să acopere întreaga gamă a bacteriilor patogene; continuu sînt obținute noi astfel de peniciline, cu calități deosebite.

(ii) Cefalosporinine (produse de *Cefalosporium acremonium*, un mucegai), sînt cel mai puțin toxice după peniciline. Din produsul de biosinteză a fost purificat *acidul-7-aminocefalosporinic*, pe baza căruia s-au obținut numeroși derivați de semisinteză, *cefazolin*, *cefalotin*, *cefaloridin*, *cefalexin*, *cefacetril* etc., cu unele variații de spectru antimicrobian. În general, au același spectru cu ampicilinele, dar sînt rezistente la penicilinază (exceptînd concentrații foarte mari); sînt în special active față de bacili și coci gram-pozitiv inclusiv stafilococi rezistenți la penicilină G și V (exceptînd enterococul și unele tulpini *S. epidermidis*) și asupra bacililor gram-negativ inclusiv *Klebsiella*; *Cefazolin* este activ și asupra speciei *Proteus mirabilis*. Sînt inactive față de enterococ, piocianic, *B. fragilis*. Preparate mai noi, ca cefamandol, cefatrizin, cefoxitin au un spectru mai larg față de bacilii și cocobacili gram-negativ. Antibiograma este totdeauna necesară pentru utilizarea acestor multe derivate de cefalosporine.

(iii) Clindamicina, derivat de semisinteză al lincomicinei; spectrul de acțiune include stafilococii producători de penicilinază și bacilii gram-negativ anaerobi, mai ales *B. fragilis*.

(iv) Novobiocina (produsă de *Streptomyces niveus*), activă asupra bacteriilor gram-pozitiv și specii gram-negativ: *Proteus*, *Enterobacter*, *Haemophilus*. Rezistența se instalează repede.

(v) Tetraciclinele (produse de diferite specii *Streptomyces* ca *S. aureofaciens*); se utilizează:

preparate de biosinteză și	derivate de semisinteză:
Tetracicline (multe)	*Metaciclina* (rondomicina)
Oxitetraciclina	*Doxyciclina* (vibramicina)
Demetilclortetraciclina,	*Minocyclina* etc.
Clortetraciclina (aureomicina)	

Toate tetraciclinele (T) au spectre practic identice foarte largi: coci și bacili gram-pozitiv și gram-negativ aerobi, facultativ anaerobi și anaerobi, inclusiv *Haemophilus*, *V. cholerae*, spirochete, *Actinomyces*, *Nocardia*; în special active față de *Brucella*, *Francisella*, *Rickettsia*; de elecție în infecții cu *Mycoplasma*; active antiprotozoa. S-au selectat un număr mare de tulpini rezistente, inclusiv bacili anaerobi. Dau rezistență încrucișată în cadrul grupului: o tulpină devenită rezistentă la o T. este rezistentă la toate T. de biosinteză; *minocyclina* este însă activă față de bacterii devenite rezistente la T. de biosinteză.

Datorită spectrului larg, în administrări orale, suprimă speciile normal prezente în intestin, favorizînd dezvoltarea excesivă a celor rezistente; unele din acestea avînd un oarecare potențial de patogenitate (levuri, stafilococi, piocianic, *Proteus*, streptococi, anaerobi etc.), prin suprainmulțire, induc efecte patologice „postantibioterapie".

(vi) Cloramfenicolul (C), are același spectru larg ca și T. fără a fi activ față de *Proteus* și *Pseudomonas*. Are o bună penetrabilitate în celula organismului superior fiind activ față de bacteriile facultativ (*Salmonella*) și obligator intracelulare (*Rickettsia*); de elecție în meningita cu *H. influenzae*, febra tifoidă (tulpini rezistente de *S. typhi* au început să fie puse în evidență, din 1972, și în țara noastră) și infecții cu bacili gram-negativ anaerobi.

Este foarte toxic; supradozat (1 000 × CMI), are aceeași acțiune în celulele organismului superior ca și față de bacterii, intră în competiție cu RNA-m pentru sediile de pe ribozomi; alterează mitocondriile, inhibă sinteza imunoglobulinelor, deprimă eritropoeza etc. Devine toxic în tratamente prelungite prin cumulare; analogi *ai* C. sînt folosiți ca imunodepresori. Produce accidente ușoare (anemii, trombocitopenii, leucopenii) și tardiv grave (după 5—10 săptămîni de la întreruperea tratamentului pot apărea panmielopatii aplastice, rare, 1/20.000, dar aproape întotdeauna mortale). Aceste accidente sînt mai frecvente la imaturi, renali, hepatici și frecvența lor crește cu doza; literatura subliniază că accidentele date de cloramfenicol ocupă un loc îngrijorător. *Este indicat numai în infecții care amenință viața și cînd bacteria infectantă nu este sensibilă la alt* A.*.

(vii) Aminoglicozidele: *streptomicina*, *kanamicina*, *neomicina*, *paromomicina* și *gentamicina*, sînt A. cu spectru larg (produse de specii *Streptomyces*); în general toxice:

Neomicina este cea mai toxică, dar și foarte activă, cu acțiune mai ales față de bacilii gram-negativ (*Escherichia*, *Klebsiella*, *Serratia*).

Kanamicina este foarte activă față de bacilii gram-negativ, inclusiv toate speciile *Proteus*, ca și *gentamicina*. Toate sînt mai puțin active față de *S. typhi*, puțin active față de *Pseudomonas*. Toate sînt inactive față de anaerobi.

Streptomicina este de elecție față de *Fr. tularensis*, *Y. pestis*, *Brucella*; în asociație cu penicilina, vancomicina sau eritromicina, are efect sinergic asupra enterococului și a streptococilor *viridans*, asociații indicate în endocardita bacteriană subacută.

---

* Este foarte stabil și difuzează bine în geloză dînd zone mari de inhibiție în antibiograma difuzimetrică și iluzia unei superiorități deosebite.

Toate sînt și tuberculostatice, dar cu excepția streptomicinei, sînt prea toxice pentru a fi utilizate în acest scop (tratamente de lungă durată). Rezistența (R) bacteriilor față de streptomicină se instalează foarte repede; față de celelalte, mai încet. Acționînd prin aproape același mecanism, dau R. încrucișată între ele și mai puțin față de gentamicină; R. încrucișată între kana-, neo- și paromomicină este completă; nu dau R. încrucișată cu tobramicina.

Gentamicina (produsă de *Micromonospora purpurea*) este A. cu cel mai larg spectru, păstrat ca A. de rezervă; activ față de bacilii și cocii gram-pozitiv, inclusiv stafilococii producători de penicilinază, bacilii și cocii gram-negativ, inclusiv bacteriile problemă (toate speciile *Proteus*, *Pseudomonas*, *Serratia*), cocobacilii gram-negativ. Rezistența se instalează destul de repede, dar procentul de tulpini rezistente pentru gram-negativi este încă redus, 5—25%.

Amikacin (derivat semisintetic de kanamicin) este activ asupra b. gram-negativ inclusiv *Proteus*, *Pseudomonas*, *Serratia*; este A. de rezervă, după gentamicină.

Aminozide noi: Tobramicina, similară gentamicinei, este mai activă față de piocianic și la fel de activă față de *Klebsiella*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Proteus*, are acțiune sinergică cu piopenul față de piocianic; *Sisomicina* mai activă ca gentamicina asupra piocianicului, *Klebsiella* și *Proteus*; *Spectinomicina* (actinospectin sau trobicin, produsă de *Streptomyces spectabilis*) folosită aproape exclusiv în tratamentul gonoreelor date de gonococ rezistent la penicilină.

Toate sînt toxice, dozaj strict în raport de greutate.

e) **Antibiotice antituberculoase**

(i) Rifamicine (produse de *Streptomyces mediteranei*); *rifadinul* sau *rifampin*, A. cu spectru larg, este reținut ca remediu major în tratamentul tuberculozei. Mutanți cu înaltă rezistență apar atît în sînul speciilor *Mycobacterium*, ca și a celorlalte specii sensibile, tratamentul permițînd selectare de tulpini rezistente; nu dă rezistență încrucișată cu alte A. antituberculoase. Acționează mai ales asupra bacililor aflați extracelular, pătrunde în celulă numai la concentrații maximale.

(ii) Streptomicina (produsă de *Streptomyces griseus*) este primul A. folosit în tuberculoză; terapia exclusivă cu streptomicină duce repede și frecvent la selectare de mutanți rezistenți (R) atît mutanți cu R. foarte mare (înaltă) cît și mutanți cu R mică (joasă). Folosirea streptomicinei și în terapii față de alte specii sensibile, i-a scăzut foarte mult din valoarea ca antituberculos; numeroase tulpini de b. Koch sînt R. sau posedă un mare procent de mutanți R. În plus, streptomicina are o slabă penetrabilitate (20%) în celula organismului superior, iar speciile *Mycobacterium* sînt specii facultativ intracelulare.

(iii) Cicloserina sau oxamicina (activă și față de gram-negativi, *Escherichia*, *Proteus*) este un tuberculostatic toxic, de necesitate.

(iv) Viomicina (produsă de *Streptomyces floridae funiceus*) tuberculostatic toxic.

2. ANTIBIOTICE ANTIFUNGICE

Griseofulvina (fulvicin; biosintetizată de *Penicillium griseofulvum*) este activă numai față de fungii micelieni producători de dermatomicoze (*Microsporum, Trichophyton*); toxicitate redusă.

Nistatin (micostatin, stamicin; produs de *Streptomyces nursei*), antibiotic polienic; activ mai ales față de levuri.

Amphotericina B (fungizon; produsă de specii *Streptomyces*), antifungic polienic, se fixează la sterolii prezenți în m. c. p., producînd modificări ireversibile ale membranei. Este antifungicul cu cel mai larg spectru: atît față de fungii micelieni, cît și față de levurile patogene, inhibînd înmulțirea. Toxic, alterează hematiile.

Este activă și în candidoza superficială „in topical preparation" *Topical therapy of the skin* în „Manual of medical therapeutic", 20th ed. Depart. of Med. Washington Univ. School of Med. p. 25 și 33, 1971; „Medical Microbiology": Jawetz E., p. 114, 1972; „dacă este aplicată pe ariile implicate, în loțiune sau cremă, după curățirea și uscarea lor" ... (*J. W. Wilson*, în „*Infectious Diseases*", p. 720, *Hoeprich*, 1972); ... dă bune rezultate în candidoza urinară „irigarea vezicei cu amphotericină B ... nu are nici un efect toxic și este eficientă" ... (*Wise, Wainstein, Goldberg, Kozim*, JAMA, 1973). Este singurul A. utilizat în micoze profunde pe cale i.v. Experimental, dă mai bune rezultate în micozele cu fungi micelieni în asociație cu rifampicină.

Cycloheximida inhibă sinteza proteinei la multe levuri (similar cloramfenicolului); inactiv față de fungi micelieni; foarte toxic.

Flucitozin (Ancotil) activ numai față de levuri și unele tulpini de *Cryptococcus*; în asociere cu amphotericin B utilizat în micoze sistemice și în meningita cu *Cryptococcus*.

H. CRITERII MICROBIOLOGICE DE UTILIZARE A ANTIBIOTICELOR

1) Cînd nu este posibilă sau nu este necesară antibiograma, antibioticele active se aleg în baza spectrului natural de sensibilitate, cunoscut pentru majoritatea patogenilor.

2) Pentru specii ușor supuse fenomenelor de dobîndire a rezistenței, sînt necesare teste de determinare a sensibilității la A. (antibiograme).

3) În infecții lente, cronice, colecții purulente în care bacteriile se află în fază de înmulțire încetinită sau latentă, se preferă A. bactericide dar mai ales polimixine; singurele active și asupra bacteriilor în fază de latență.

4) La bolnavi cu deficiențe de apărare antiinfecțioasă, se preferă A. bactericide. În organismul tratat cu A. bactericide, efectul sterilizant aparține în primul rînd antibioticului; în organismul tratat cu A. bacteriostatice, sterilizarea de bacteria infectantă se datorează intervenției fagocitelor, lizozimului, a anticorpilor + complement. De aceea, bacteriostaticele sînt mai puțin eficiente în organisme imunologic imature (nou-născuți, sugari), la bolnavi cu deficiențe imunologice, leucopenici, la tratați intensiv cu imunodepresive, pentru sterilizarea leziunilor supurative în care fagocitele au devenit nefuncționale, necrozate. În astfel de leziuni, inhibarea creșterii bacteriilor este favorizată și de anaerobioză; după drenare, ele își reiau înmulțirea, antibioticele redevin active, iar noile leucocite sînt

Tabelul 19

Clasificarea antibioticelor în raport de spectrul antimicrobian natural

			Concentrație serică µg/ml	CMI µg/ml
I. ANTIBIOTICE ANTIBACTERIENE				
A. Antibiotice cu același spectru cu al penicilinelor de biosinteză *				
Peniciline	de biosinteză	Penicilină G	2—200	0,1—5
		procain penicilina G		
		benzatin penicilina G		
		Penicilină V	2—200	0,1—5
	de semisinteză rezistente la penicilinază	Meticilina		2,5
		Oxacilina		0,5—0,6
		Nafcilina		0,5—0,6
		Cloxacilina		0,5—0,6
		Dicloxacilina		
Macrolide		Eritromicina	3—20	0,5—6,2
		Oleandomicina		
		Spiramicina		
Piostacina (Pristinamicina)				
Fucidin (Acid fusidic)			25—30	
B. Antibiotice active asupra bacteriilor gram-pozitiv				
Lincomicin			2	
Ristocetin			5—40	0,2—10
Vancomicin			15—20	
Bacitracin				
Gramicidin				
C. Antibiotice active asupra bacililor și cocobacililor gram-negativ				
Polimixine		Colistina (Polimixina E)		
		Polimixina B	2—8	12,5
		Aremyxina (derivat de polimixină B)		
D. Antibiotice cu spectru larg				
Peniciline de semisinteză		Ampicilina (pembritin)	3	0,1—20
		Pyopen (carbenicilină)	25—160	10—200
	derivați de ampicilină	Amoxicilină	6	
		Ticarcilina	31	
		Pivampicilina		
		Metampicilina		
		Epicilina		
Cefalosporine de semisinteză		Cefalotina (Keflin)	15—200	0,12—8
		Cefaloridin (Loridin)		10
		Cefalexin (Keflex) etc.		
Clindamicin			10—45	0,4—5
Novobicin				

Tabelul 19 continuare

Tetracicline	de biosinteză	Tetraciclina	3–30	0,8–10
		Oxitetraciclina		
		Demetilclortetraciclina		
	de semisinteză	Metacilina		
		Doxiciclina		
		Monociclina		
Aminoglicozide		Streptomicina	25–50	2–10
		Neomicina		10
		Kanamicina	14–40	1–10
		Amikacin	21	1–10
		Paromomicine		
		Tobramicin	4	1–5
		Sisomicin		
		Spectinomicin (Trobicin)		
		Gentamicin	3,5–5–(8–10)	1–5
Cloramfenicol			15–20	3,1–20
E. **Antibiotice antituberculoase**				
Rifamicine: Rifadin (Riferipin) etc.			10	1–10
Streptomicina			15–20	
Cicloserina				
Viomicina				
Capreomicina				
II. ANTIBIOTICE ANTIFUNGICE				
Grizeofulvin				
Nistatin				
Amphotericin B (Fungizon)			0,5–2	0,05–40
Cycloheximida				
Flucitozin (Ancotil; Ancoban)			50–100	6,46–120
III. ANTIBIOTICE ANTIPROTOZOA				
Fumagilin				
Paromomicina				
Cicloheximida (Actidiona)				
Tetracicline				
Amphotericina B				
IV. ANTIBIOTICE ANTIVIRALE (nu există încă pentru terapie de rutină.				

capabile de fagocitoză. De aceea, în plăgi supurate, fistule, mai eficiente sînt antisepticele.

5) Nu se asociază bacteriostatic cu bactericid, deoarece bacteriostaticul anulează efectul bactericidului, aspect mai mult decît verificat în practică.

6) Nu se subdozează antibioticele (v. subcap. E.).

7) Antibioticele bactericide care acționează prin mecanisme diferite se potențează.

8) Ținînd seama de sensibilitatea *in vitro*, bacteriile obligator și facultativ intracelulare sînt mai sensibile la A. cu bună penetrabilitate intracelulară, în macrofage în special: cloramfenicol, tetracicline, cicloserina; penetrante numai în doze mari sau maximale cum sînt penicilina, strepto-

---

* La fiecare grupă antibioticele sînt eșalonate în ordinea toxicității, începînd cu cele mai puțin toxice; spectrele de activitate în detaliu sînt incluse în text.

micina, cefalosporine, rifamicina; A. care nu pătrund în celule sînt active numai asupra bacteriilor extracelulare sau aflate în faza extracelulară.

9) Reşute ale infecţiilor tratate cu antibiotice, după o perioadă de remisiune, înseamnă uneori suprainfecţii, dar, adesea, selectare de variante rezistente; în ambele cazuri este necesară reizolarea infectantului şi determinarea sensibilităţii la A.

BIBLIOGRAFIE

1. ACAR J. F., GUILBERT J.: Relations entre concentration sérique d'antibiotique et pouvoir inhibiteur du sérum. Application à l'ampicilline et l'amoxicilline. *Nouv. Presse Méd.*, *4*, 34, p. 2441, 1975.
2. ANGELESCU M.: *Folosirea raţională a antibioticelor.* Ed. Med., Bucureşti, 1976.
3. AUBERTIN J., LACUT J.-Y., MERIET M., ISSANCHOU A.-M., LEGENDRE M. P.: Modalité rationnelles de l'utilisation des antibiotiques. *Bordeaux Méd.*, 17, p. 1101, 1977.
4. BALS M.: *Terapia infecţiei.* Ed. Med., Bucureşti, 1976.
5. BOTTONE E. J., BRADMAN Z., SCHINEIERSON S. S.: Spheroplasts of *H. influenzae* induced by cell wall-active antibiotics and their effect upon the interpretation of susceptibility tests. *Antimicrob. Ag. Chemother.*, *9*, 2, p. 317, 1976.
6. BROWN D. F., KAYSER F. H., BIBER J.: Gentamicin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Lancet*, 7982, p. 419, 1976.
7. CARCORAN J. W., HANN F. E.: *Antibiotics. 111. Mechanism of action of antimicrobial and antitumor agents (Mikamycin).* Springer—Verlag Berlin—Heidelberg—NY, 1975.
8. CURTIS N. A. C., HUGHES H. J., ROSS G. W.: Inhibition of peptidoglycan cross-linking in growing cells of *E. coli* by penicillins and cephalosporins and its prevention by R factor-mediated betalactamase. *Antimicrob. Ag. Chemother.*, *9*, 2, p. 208, 1976.
9. DELAUNAY J., SCHAPIRA G.: Ribosomes et antibiotiques. I. Structure et fonctionnement des ribosomes (2251—2256). II. Méthode d'action des antibiotiques d'usage thérapeutique sur les ribosomes (2 329—2331). *Presse. Méd.*, *3*, nr. 34 şi nr. 35, 1974.
10. DUCA E.: Eliberarea antibioticelor şi chimioterapicelor fără prescripţie medicală, cauza majoră a declasării lor ca agenţi terapeutici. *Farmacia*, *20*, 8, 449—458, 1972.
11. DUCA E., BUIUC D., BERCOVICI C., IOSUB C.: Bacili tifici rezistenţi la cloramfenicol şi multirezistenţi la antibiotice, izolaţi începînd din 1971. *Bacteriol. Virusol. Parazitol., Epidemiol.*, *XXI*, 227—232, 1976.
12. FLECK J., MARTIN J. P., MOCK M.: Modification de la perméabilité cellulaire sous l'action de faible doses de penicilline. *Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur)*, *125 B*, 201—207, 1974.
13. IIDA J., KOIKE M.: Cell wall alterations of gram-negative bacteria by aminoglicoside antibiotics. *Antimicrob. Ag. Chemother.*, *5*, 1, p. 95, 1974.
14. KITAHARA M., KOBAYASHI G. S., MEDOFF G.: Enhanced efficacy of Amphotericin B and rifampicin combined in treatment of murine histoplasmosis and blastomycosis. *J. Infect. Dis.*, *133*, 6, p. 663, 1976.
15. LEVY S. B., FITZGERALD G. B., MACONE A. B.: Spread of antibiotic-resistant plasmids from chicken to chicken and from chicken to man. *Nature*, *260*, 4 March, p. 40, 1976.

16. MOCK M., ROUSSET A., FLECKJ J.: Étude de l'inhibition de la division cellulaire par la pénicilline. *Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur), 125 B*, 193—199, 1974.

17. NEU H. C.: The penicillins; 1. overview of microbiology. *NY State J. Med., 77*, 5, p. 768, 1977.

18. PILLAY N., ADAMS E. B., NORTH-COOBBES D.: Comparative trial of amoxycillin and chloramphenicol in the treatement of typhoid fever in adult. *Lancet*, 7930, p. 332, 1975.

19. PUJET J. C., HOMBERG J. C., DECROIX G.: Sensitivity to rifampicin: incidence, mechanism and prevention. *Brit. Med. J.*, 2, 415—418, 1974.

20. REVERDY M. E., MADIER S., FLEURETTE J.: Les céphalosporines. *Lyon Méd.* 237, 10, p. 781, 1977.

21. SEAL D. V., STRANGEWAYS J. E. M.: Gentamicin-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Lancet, 1*, 7962, p. 747, 1976.

22. SIEGEL D., HUBER G. W., ENLOE F.: Continuous non-therapeutic use of antibacterial drugs in feed and drug resistance of the gram-negative enteric flora of food-producing animals. *Antimicrob. Ag. Chemother., 6*, 6, p. 687, 1974.

23. SOLOMON S., SUBRAMANIAN S., MADANAGOPOLAN N.: *In vitro* sensitivity of enteric bacteria to epicillin, chloramphenicol, ampicillin and furazolidon. *Curr. Med. Res. Opin.*, 4, p. 229, 1976.

24. TISON A. C., DANDRES M.: Essai contrôlé de la suppression de l'antibiothérapie prophylactique dans un centre de médicine néonatale. *MP*, 1, p. 96, 1975.

25. * * *: Report on antibiotic sensitivity test trial organized by the Bacteriology Committee of the Association of Clinical Pathologists. *J. clin. Path., 18*, 1, 1965.

26. * * *: *Modele experimentale pentru studiul noilor antibiotice*. Masă rotundă, IMF Iași, 1971.

27. * * *: *Triméthoprim/sulfaméthoxazole*. Symposium de la Wellcome Foundation, Sardaigne, 1972.

28. VOICULESCU M.: Terapia antifungică în progres. *Viața medicală, XXIV*, 8, 337—340, 1977.

X. GENETICA BACTERIANĂ

Genetica se ocupă de studiul eredității și variabilității speciilor: *ereditarea* este însușirea biologică generală a viețuitoarelor de a conserva proprietățile de structură și funcție ce caracterizează specia și de a le transmite nemodificat din generație în generație; *variabilitatea* constă în diferențele ce apar între membrii unei specii, între descendenți și parental (parentali), ușor puse în evidență la bacterii.

Cele mai multe din cunoștințele privind bazele moleculare unitare ale geneticii au fost *deduse din studii pe bacterii și virusuri*; prin ele au fost cunoscute:

- suportul material al caracterelor de specie, structura nucleului (cap. II, A, 1);
- mișcarea nucleului și fenomenele eredității, care asigură conservarea caracterelor;
- mecanismele variabilității, care conduc la modificarea caracterelor de specie;
- fenomenele de selecție naturală și artificială etc.

Studii de genetică bacteriană au făcut posibilă înțelegerea unor importante fenomene de ordin medical ca:

mecanismele apariției de tulpini bacteriene rezistente și multirezistente la antibiotice și chimioterapice;
mecanismele variației patogenității bacteriilor;
apariția ,,tulpinilor periculoase de spital'',

ceea ce a permis deducții de ordin profilactic și terapeutic.

A. DNA, SUPORTUL MATERIAL AL EREDITĂȚII

Suportul material al eredității, genoforul, depozitarul caracterelor de specie, este reprezentat de DNA-cromozomial; *cercetările care au dus la descoperirea acestui adevăr au început în 1928, cu cele ale bacteriologului Griffith*:

1) În 1928, se cunoștea că *Diplococcus pneumoniae* virulent (izolat din spută de la bolnav cu pneumonie) *are capsulă* polizaharidică, formează pe geloză colonii *smooth* (S) și inoculat la șoarece determină septicemie mortală; spre deosebire, pneumococii *necapsulați* nu produc îmbolnăvirea șoarecelui, nu sînt virulenți, formează pe geloză colonii *rough* (R); se știa,

de asemenea, că există mai multe tipuri antigenice de pneumococi diferențiați prin structura polizaharidului capsular (I, II, III).

Inoculînd intraperitoneal la șoarece pneumococ *tip II, R (necapsulat), viu*, împreună cu suspensie de pneumococ *tip I, S (capsulat), omorît, Griffith* a constatat că șoarecele moare cu septicemie dată de pneumococ tip I S; (în inoculări separate, nici una din suspensii nu dă îmbolnăvire). Reiese că, pneumococul virulent omorît a indus pneumococului viu avirulent capacitatea de a forma capsulă și cu aceasta și patogenitatea, *a indus o transformare, din nepatogen în patogen.*

Rezultate identice au fost obținute și *in vitro*: cultivat în prezența unor extracte de pneumococ S, pneumococul R devine S, virulent.

În acea perioadă, biochimiștii descopereau natura cromozomilor; prezența DNA a fost pusă în evidență și la bacterii (1942–1944).

2) Natura principiului transformator a fost descoperită de *Avery, Mac Leod* și *McCarty* în 1944: cultivînd pneumococi R împreună cu diferite extracte purificate de pneumococi S, *Avery* și colaboratorii au descoperit că *principiul transformator este DNA.*

Interpretarea acestor experiențe a fost posibilă cînd și alte caractere ale pneumococului au putut fi *transformate* în același mod și transformări similare au fost obținute și la alte specii *(Haemophilus, Bacillus).*

3) A treia categorie de cercetări care au confirmat rolul DNA ca depozitar al caracterelor genetice au fost experiențe cu bacteriofagi; ele au demonstrat că pătrunderea fagului în bacterie (cap. VIII) înseamnă pătrunderea DNA-fagic, nu și a capsidei proteice; DNA-fagic ajuns în bacterie impune acesteia sinteză de fag complet. Această confirmare s-a făcut prin experiențe de marcare diferențiată: marcarea DNA-fagic cu fosfor radioactiv are ca rezultat evidențierea radioactivității în bacterii, ,,*fantomele*'' fagice (capside goale) rămînînd ,,reci''; marcarea proteinei fagice, a capsidei, cu sulf radioactiv, lasă ,,reci'' bacteriile, deoarece ,,*fantomele*'' fagice devenite radioactive rămîn extracelular.

Aceste trei tipuri de experiențe au demonstrat cu claritate rolul DNA ca purtător al informației genetice, al caracterelor de specie.

B. EREDITATEA LA BACTERII

Descoperirea funcționalității DNA a stabilit că specificitatea biologică rezidă în aranjamentele secvențiale ale celor 4 baze azotate (A, G, T, C) care intră în structura polinucleotidului. O genă este reprezentată de o anumită *secvență de mononucleotide*, de un fragment de DNA; ea codifică, poartă, ,,informația'' de structură a unei anumite secvențe polipeptidice și astfel a unei anumite enzime, care caracterizează funcția sau asigură structura caracteristică speciei.

Bacteriile sînt supuse acelorași legi ale eredității, unitare întregii lumi vii, cu aspecte particulare dictate de gradul lor de organizare. Astfel, *în timpul diviziunilor succesive (dacă nici un accident genetic nu are loc), toți descendenții unei bacterii sînt identici între ei și identici cu bacteria-mamă,* fenomen ce poartă numele de „*descendență verticală*", cu formare de „clone", populații de indivizi identici. Această stabilitate întîlnită numai la procariote (și virusuri), este asigurată de organizarea unicelulară de tip haploid — set unic de gene, cu înmulțire asexuată, *replicare identică a cromozomului unic* (v. cap. II, A, 1,2).

C. VARIABILITATEA GENETICĂ LA BACTERII
(Mecanisme)

La bacterii, în sînul speciilor, sînt posibile numeroase variații:

— unele determinate de variații de mediu, care interesează, practic, o întreagă populație, care dispar odată cu cauza determinantă și interesează numai expresia fenotipică a bacteriei, numite *variații fenotipice*

— altele, care interesează genomul, devenind caractere ereditare, se transmit din generație în generație, independent de modificările de mediu, numite *variații genotipice*.

Azi se cunoaște că orice perturbare în succesiunea secvențelor perechilor de baze din lanțul DNA duce la modificarea caracterului înscris în gena respectivă, la apariția unei variații genetice. Datorită autoreplicării, orice astfel de modificare se transmite din generație în generație, devine caracter ereditar; orice caracter al unei bacterii poate fi supus variației. Se cunosc trei mecanisme prin care apar variații genetice la bacterii: *mutația*, *recombinarea cromozomială* și *transferul de plasmide*.

1. MUTAȚIA

Apariția variantelor în populații bacteriene a fost considerată de unii cercetători fenomen de adaptare la un factor inductor specific; de exemplu, apariția rezistenței la fag într-o populație sensibilă s-ar datora adaptării treptate în prezența și datorită fagului respectiv. Experiențele care urmează au demonstrat că această variație are loc prin mutație, independent de contactul cu fagul:

Luria și *Delbrück*, 1943, inoculînd fag virulent specific, în exces, într-o populație bacteriană lizosensibilă, au constatat (i) *selectarea unui mic procent de colonii rezistente*, $1/10^4 - 10^9$ (din 1 000 000 000 de celule care se divid, există șansa ca o celulă să reprezinte o variantă) și că (ii) *rata variantei rezistente în populația sensibilă la fag rămîne fixă în generații succesive.*

Soții *Lederberg*, 1952, pe baza tehnicii de cultivare a replicilor coloniilor crescute pe placa Petri, au demonstrat în plus că *varianta rezistentă la fag exista în populația sensibilă independent de contactul cu fagul*, că a apărut prin mutație și nu prin adaptare la factorul specific, că fagul este doar factorul selector (fig. 44).

La bacterii, mutația induce mai frecvent variații genetice decît la organismele superioare. Aceasta se explică prin faptul că (i) materialul genetic al fiecărui individ monocelular, bacterie, este mult mai accesibil influențelor din mediul ambiant decît acela al celulelor organismelor multicelulare și (ii) prin lipsa membranei proteice protectoare a nucleului la bacterii (histonele).

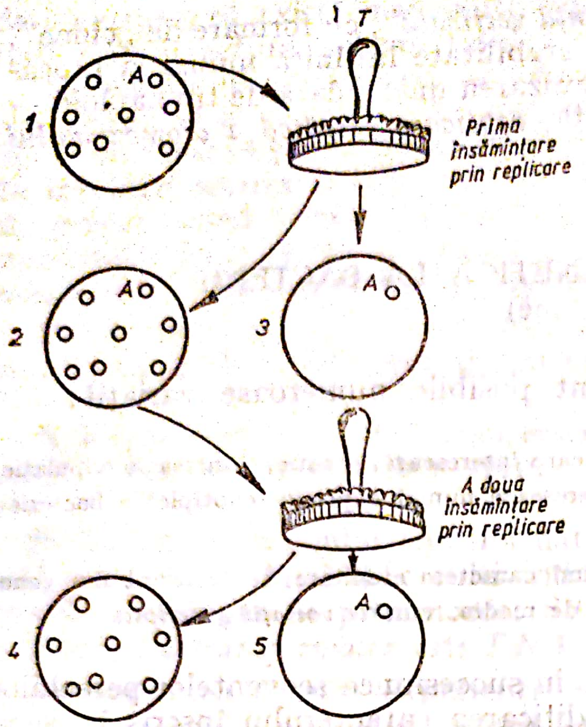

T
1
A
Prima însămînțare prin replicare
2
3
A doua însămînțare prin replicare
4
5

Fig. 44: Decelarea mutațiilor prin tehnica replicării plăcilor (*replica plating*) :

T = tampon învelit cu catifea pentru însămînțare prin tehnica replicărilor 1, 2, 3: plăci cu mediu, fără fag, cu colonii provenind din tulpină lizosensibilă; 3, 5: mediu cu fag; (A) colonie lizorezistentă; în generații succesive, colonia A, rezistentă la fag, evidențiată la prima trecere este regăsită în aceeași poziție pe plăcile fără fag: colonia lizorezistentă a apărut independent de contactul cu fagul, din mutant preexistent.

Mecanismele mutației. Mutația are loc prin *eroare de copiere* în timpul autoreplicării DNA, cu alterarea structurii uneia sau mai multor gene. Aceste *erori* sînt rare în condiții considerate ,,normale'' de dezvoltare a bacteriilor, dar pot deveni frecvente sub influența anumitor *factori mutageni* :

— *chimici,* agenți competitivi ai pirimidinelor, acidul nitros etc., care pot duce la substituirea unei perechi de gene, sau

— *fizici,* UV, radiații X, radiații ionizante, temperaturi înalte etc.

a) *Substituirea unei perechi de baze din helixul de DNA prin altă pereche:*

(i). S-a demonstrat că prezența în mediul de cultură a bacteriilor a anumitor agenți competitivi ai precursorilor DNA (baze purinice, pirimidinice) pot induce erori de replicare : cînd în mediu cantitatea de timină este limitată și, concomitent, este prezent 5-bromuracilul analog pirimidinelor, unii indivizi bacterieni îl vor încorpora în locul timinei. În acest caz, la următoarea replicare, 5-bromuracilul va atrage pe catena opusă *guanină în loc de adenină* și astfel apare mutația (modificare în secvența bazelor).

(ii). Acidul nitros (HNO_2) poate converti perechea A-T în G-C prin dezaminare : adenina ar fi convertită în hipoxantină care, în timpul autoreplicării, va cere citozină în loc de timină; apare mutație.

b) *Deleția* este ruperea unui segment de DNA cu reînscrierea lui inversă, sau pierdere. Un astfel de segment poate fi purtătorul unei sau mai multor gene.

Dacă mutația interesează o genă care codifică sinteza unei enzime foarte importantă pentru vitalitatea bacteriei, *mutația poate fi letală*, ceea ce nu afectează din punct de vedere genetic tulpina (populația bacteriană). Unele mutații pot interesa în mică măsură vitalitatea bacteriei, cum ar fi pierderea capacității de a sintetiza polizaharid capsular (variația S—R), sau pierderea capacității de sinteză a unei enzime fermentative, a unui metabolit (apar mutante *auxotrofe*) etc. Astfel de mutanți se divid în același ritm cu restul populației; proporția lor în populație rămîne aceeași.

Pentru a pune în evidență existența unor astfel de mutanți într-o populație (unul la sute de mii sau milioane de indivizi nemodificați), *este necesar* *un factor de selecție*: de exemplu, fagul litic permite punerea în evidență a mutantului rezistent în populația lizosensibilă, prin supraviețuirea pe mediul cu fag, dînd colonii vizibile.

Este bine demonstrat că mutante pot apare în orice populație bacteriană și că mutația poate interesa orice caracter al bacteriei, inclusiv caractere de interes medical ca sensibilitatea la chimioterapice și antibiotice, virulență, toxigenitate.

2. RECOMBINAREA CROMOZOMIALĂ (TRANSFERUL DE GENE)

a) **Mecanisme de integrare a DNA străin în cromozom.** *Recombinarea cromozomială ca mecanism de apariție a variației genetice constă în modificarea genomului unei tulpini-receptor prin acceptarea de DNA străin* (de la o tulpină-donator). În bacteria-receptor pătrunde doar o parte de DNA de la bacteria-donator. Indiferent care este mecanismul prin care DNA străin a ajuns la bacteria-receptor, integrarea în cromozom poate avea loc prin două procese diferite:

— *rupere și reunire cu schimb reciproc de segmente de DNA*; datorită unui grad de omologie, DNA străin (exogenotul) se alătură DNA-ului bacteriei-receptor (endogenotul), putînd avea loc rupere cu schimb reciproc de segmente (fig. 45), sau

— *copiere alternativă (crossing-over)*, recombinare care are loc în timpul procesului de autoreplicare, noul cromozom formîndu-se prin copiere alternativă, pe DNA propriu și pe DNA exogen (fig. 46).

Variantele a căror genom a fost modificat prin recombinare cromozomială sînt numite și *recombinanți*.

b) **Mecanisme de pătrundere a DNA străin în bacterie.** Mecanismele de recombinare cromozomială la bacterii diferă și prin modalitatea prin care DNA-străin pătrunde în bacterie; se cunosc trei mecanisme:

(i) **Transformarea** genomului prin pătrunderea de DNA-liber, solubil, în celulă și integrare în cromozom; este mecanismul ce poate avea loc ori de cîte ori bacteria-receptor se găsește în prezența DNA liber, provenit de la altă sau de la alte bacterii-donator: în medii ecologice naturale cu floră bacteriană mixtă cum este conținutul intestinal, secreții de pe mucoase, în medii de cultură, în mediu extern.

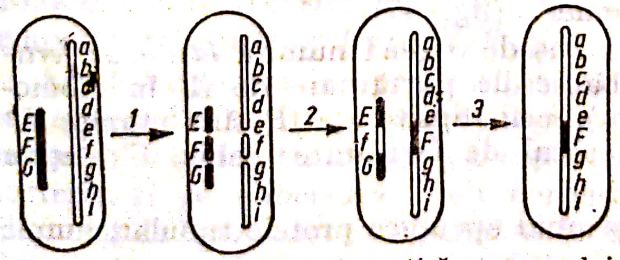


Fig. 45: Reprezentarea schematică a procesului general de recombinare prin rupere și schimb (după *Stanier*, 1966).

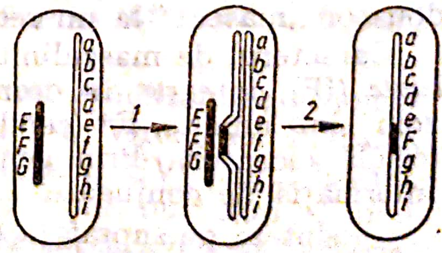


Fig. 46: Reprezentarea schematică a procesului general de recombinare prin copiere alternativă (după *Stanier*, 1966).

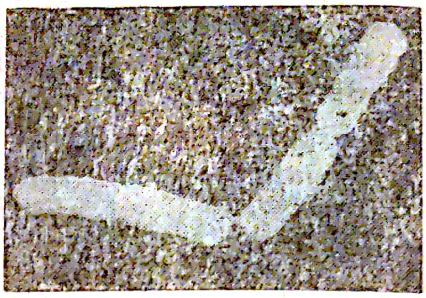


Fig. 48 : Celule de *E. coli* în conjugare (Celule Hfr donatoare în amestec cu celule receptoare E⁻. Se vede bine puntea citoplasmatică (după *Stanier*, 1966).

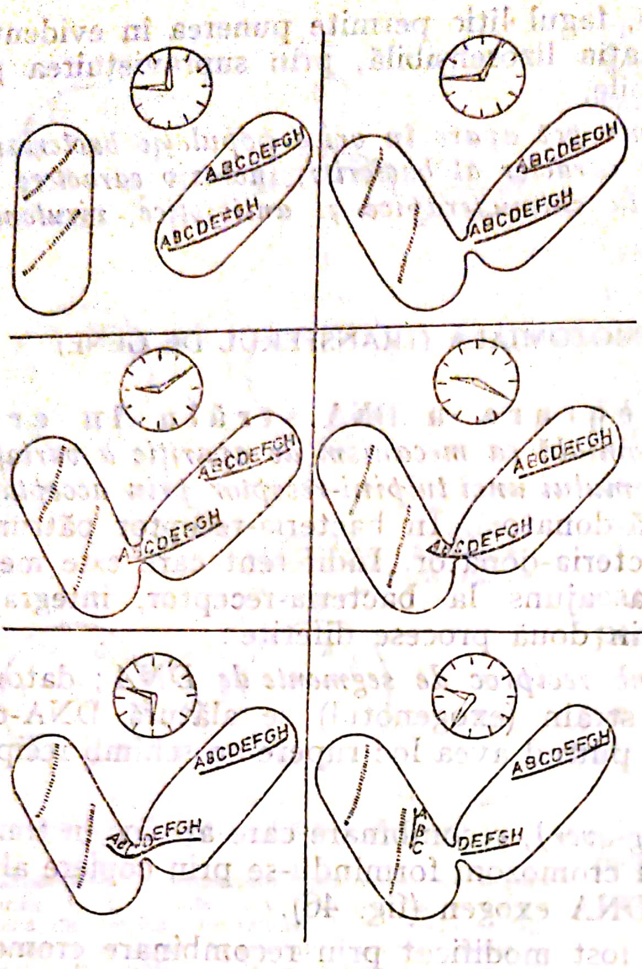


Fig. 47 : Reprezentarea schematică a procesului de transfer cromozomic (după *Stanier*, 1966).

Primele experimentări care au demonstrat această posibilitate au fost cele (deja descrise) ale lui *Griffith* (1928) și *Avery* (1944), cu diferite tipuri de pneumococi (v. pag. 163 și 164).

DNA liber, reprezentînd una sau un grup de gene, poate pătrunde prin învelișuri, putînd fi integrat în cromozom prin una din cele două posibilități de recombinare : *rupere-reunire* sau *copiere alternativă*.

(ii) **Conjugarea bacteriană cu transfer de DNA cromozomial.** (Descoperirea *transformării* a pus pentru prima dată în evidență posibilitatea recombinării printr-un mecanism total diferit de reproducerea sexuată, cu DNA liber, *bacteria donator fiind deja moartă.)* Dar, între bacterii pot avea loc și reale conjugări, cu transfer de DNA-cromozomial de la un donator „mascul" la un receptor „femel" (fig. 47).

Caracterul de masculinitate este indus de o genă numită *factor de fertilitate* (fF), integrat în cromozom : bacteriile purtătoare de fF în cromozom sînt numite F⁺ (celulă donator), cele lipsite de fF sînt numite F⁻ (celulă receptor). Prin gena sau factorul de fertilitate, celula F⁺ deține informația de conjugare :

— sinteza pe suprafața bacteriei a unui apendice proteic tubular, numit și *pil sexual* sau F-pil (fig. 48, 49) ;

— de fixare cu vîrful pilului pe bacteria F⁻, realizînd puntea intercitoplasmatică ;

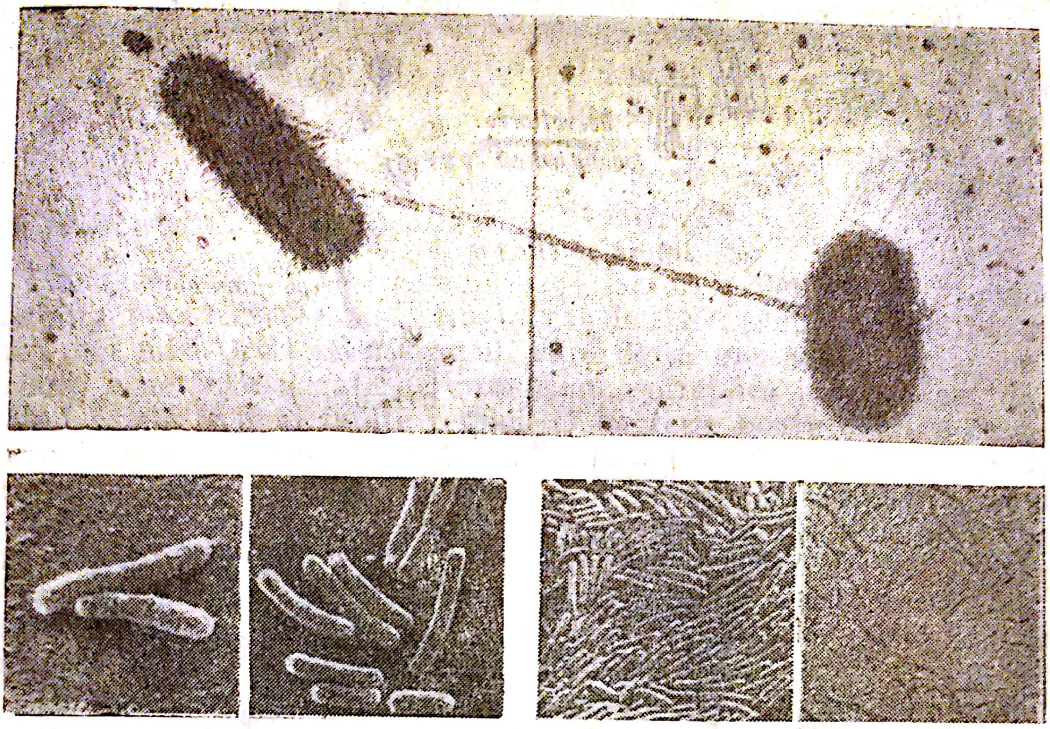


Fig. 49. Sus: două *E. coli* schimbînd gene prin conjugare.
Jos: aspecte de *E. coli* cercetate prin microscopie electronică (*Time*, 18 aprilie 1977, p. 47).

— capacitatea de a se autotransfera, cu o catenă, în celula F$^-$, inducîndu-i și acesteia proprietatea F$^+$ (de conjugare);

— de a transfera, consecutiv, și alte gene legate direct de fF; (fF poate avea diferite poziții în harta genetică a unui cromozom bacterian, putînd transfera gene diferite). Lungimea de lanț DNA transferată depinde de durata conjugării (de la cîteva pînă la 120 min.); transferul este totdeauna parțial. („F-pilii" se diferențiază de pilii comuni prin existența unor fagi care se pot adsorbi specific pe ei). Bacteriile cu fF integrat în cromozom, inițiază cu frecvență mare conjugarea cu bacterii F$^-$ fiind numite Hfr *(Haute fréquence de recombinaison)*.

(iii$_1$) **Transducția fagică** este fenomenul prin care un mic fragment de cromozom este transferat de la o bacterie la alta prin intermediul fagului temperat sau profag (cap. VIII pag. 139).

Acest mecanism începe prin schimb de material genetic între genomul bacteriei și DNA-ul fagic atașat la acesta (Partea V-a, Virologie). În cazul maturării fagului temperat (care poate fi indusă prin UV), fagul lizează bacteria și se eliberează, unii corpusculi fagici fiind purtători ai unui fragment de DNA bacterian. Cînd astfel de fagi lizogenizează o nouă bacterie, ele injectează odată cu propriul DNA și DNA provenit de la gazda anterioară, aducînd noii gazde nou sau noi caractere. Uneori, lizogenizarea duce la integrarea genei adusă de profag (de la bacteria donator) în cromozomul bacteriei-receptor (fig. 50). Transducția fagică a fost demonstrată

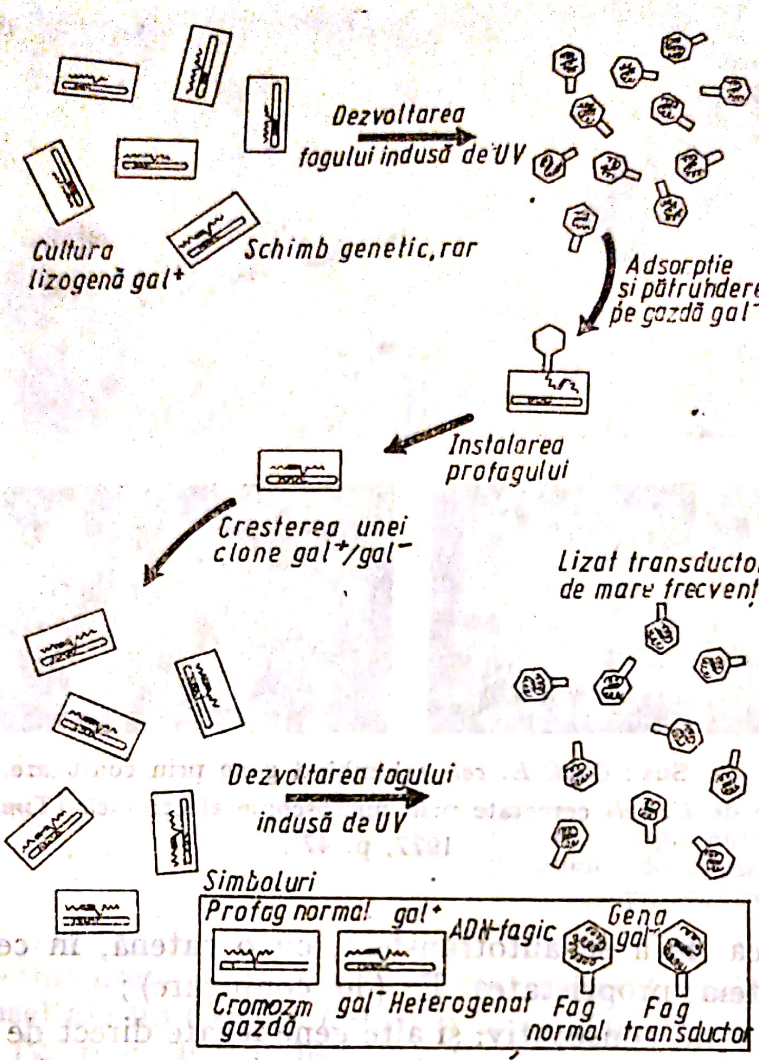

Dezvoltarea fagului indusă de UV
Cultura lizogenă gal$^+$
Schimb genetic, rar
Adsorpție și pătrundere pe gazdă gal$^-$
Instalarea profagului
Creșterea unei clone gal$^+$/gal$^-$
Lizat transductor de mare frecvență
Dezvoltarea fagului indusă de UV
Simboluri
Profag normal
gal$^+$
ADN-fagic
Gena gal
Cromozom gazdă
gal$^-$ Heterogenot
Fag normal
Fag transductor

Fig. 50 : Reprezentare schematică a procesului de transducție (după *Stanier*, 1966)

ca mecanism de transfer de la o bacterie la alta a rezistenței la diferite antibiotice, a capacității de sinteză a diferite antigene O și H la enterobacterii etc.

(iii$_2$) **Conversia lizogenică** (fagică) este un caz particular, însuși fagul temperat este acela care induce bacteriei un anumit caracter; *fenomenul nu implică un transfer de DNA de la o altă bacterie.* Conversia lizogenică a fost descoperită prin demonstrarea că anumite proprietăți sînt prezente numai la bacterii lizogenizate: o tulpină de *C. diphteriae* sintetizează toxina numai dacă este lizogenizată (purtătoare a unui anumit fag temperat); bacteria care acceptă acest fag devine producătoare de toxină difterică și, invers (un b. difteric care pierde acest fag pierde și facultatea de a produce toxină, devine nepatogen). Ulterior, s-a constatat că și alte caractere pot fi induse prin lizogenizare cu fagi temperați: noi caractere antigenice la serotipuri *Salmonella*, *Shigella*, eritrotoxigeneza la streptococ.

3. TRANSFERUL DE PLASMIDE (DNA-extracromozomial)

> ,,Bolile venerice oferă un alt exemplu bun de probleme medicale — rezolvate — care au devenit nerezolvate" (J. Inf. Dis. 134, 5, 510, 1976), ..., datorită transferului de plasmide.

Plasmidele sînt o altă categorie de factori genetici puşi în evidenţă la bacterii, ,,microcromozomi" : fragmente de DNA (dublu spiralat) şi circular, mult mai mici decît cromozomul, care deţin una sau cîteva gene (determinanţi genetici) nelegate de cromozom, se replică independent de acesta, putînd exista în mai multe replici. O bacterie poate conţine concomitent plasmide (care conţin gene) de tipuri diferite. Plasmidele nu au fixitatea cromozomului, ele pot fi cîştigate sau pierdute cu uşurinţă de bacterii. Transferul de la o bacterie la alta are loc fie prin conjugare la bacteriile gram-negativ, fie prin intermediul fagilor temperaţi la bacterii gram-pozitiv. Se cunosc pînă în prezent plasmide purtătoare a caracterului de *fertilitate, colicinogenie*, a anumitor caractere de *virulenţă, enterotoxicitate, rezistenţă la A. şi Ch.* Pentru ca un plasmid să se poată transfera de la o bacterie la alta prin conjugare, el trebuie să posede, ataşat, un factor de transfer sau factor-sex, sau factor de fertilitate citoplasmatic, similar factorului de fertilitate cromozomial.

Plasmidul de fertilitate citoplasmatic se poate transfera singur sau ataşat de alte gene de la bacterie F^+ la bacterie F^-, prin conjugare, prin acelaşi mecanism ca şi factorul de fertilitate integrat în cromozom (p. 169) ;

Plasmidul de colicinogenie (fCol) induce la *E. coli* producerea de colicină, proteină cu rol bactericid (activă atît faţă de alte tulpini din aceeaşi specie cît şi din alte specii înrudite ; ar avea ca rezultat eliminarea altor bacterii din nişa ecologică, tulpina producătoare asigurîndu-şi astfel posibilitatea de a coloniza mai uşor ; v. cap. XI).

Plasmidul de virulenţă codifică sinteza pililor capabili de aderenţă specifică la anumite epitelii, ceea ce favorizează colonizarea ; pilii ar avea şi rol antifagocitar.

Un plasmid ENT ar codifica producerea de enterotoxină la E. coli (demonstrat pentru serotipul procin *E.coli* K.88).

Factorul de rezistenţă la antibiotice (fR). Foarte important din punct de vedere medical, terapeutic, este cunoaşterea plasmidelor purtătoare a caracterelor de rezistenţă la A. şi Ch. *Factorul R* se transferă cu uşurinţă de la o bacterie la alta, fenomen cunoscut şi sub numele de ,,R-infecţie". Rezistenţa prin fR este mult mai frecventă decît cea cromozomială. Se cunosc în prezent :

(i) fR capabil de circulaţie între toţi bacilii şi cocobacilii gram-negativ, transferat prin conjugare, inducînd 99% din rezistenţa la A. şi Ch. a acestor bacterii ;

(ii) fR care circulă numai între tulpini *Staph. aureus*, transferat de fagi temperaţi ;

(iii) fR care circulă între tulpini de *N. gonorrhoeae* (probabil transferat iniţial de la altă specie gram-negativ).

Descoperirea fR a permis înțelegerea rapidei cîștigări a multirezistenței la A. și Ch. și elaborarea metodicii științifice a antibioterapiei ; acest fenomen duce la :

— apariția cu mare frecvență a tulpinilor rezistente la multe A. și Ch., multirezistente ;

— apariția tulpinilor multirezistente în timpul monoterapiei, terapie cu un singur A. (fig. 52) ;

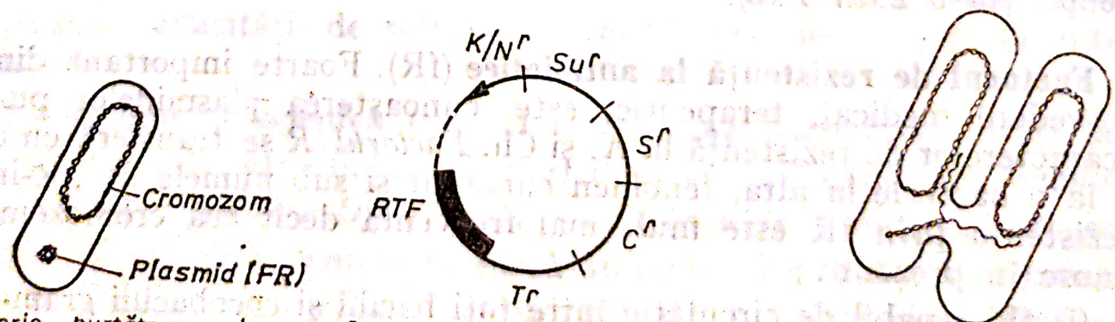
— modificarea spectrului de sensibilitate la A. a tulpinei infectante în cursul terapiei.

Structura fR transferabil : moleculă de DNA, ansă închisă, cu număr variabil de *determinanți de rezistență* (r), echivalenții genelor de rezistență, și un *factor de transfer* (RTF) (fig. 51). Fiecare determinant deține informația de rezistență față de un anumit A. sau grupă chimică de antibiotice ; este notat cu inițiala antibioticului și „r" :

La bacteriile gram-negativ, fR poate deține determinanți de rezistență pentru practic toate A. și Ch. cunoscute : macrolide (M^r), tetracicline (T^r), streptomicină (S^r), sulfamide (Su^r), peniciline (P^r), ampicilină (A^r), cloramfenicol (C^r), grupul kana-neo-paromomicină-aminosidină (K/N^r), grupul nitrofurantoin-furazolidon (N/F^r), cefalosporine ($Ceph^r$), acid nalidixic (AN^r), gentamicină (G^r), polimixine (Po^r) etc. Numărul determinanților de „r" prezenți concomitent pe un același plasmid poate varia de la unul *(monorezistentă)* la 6—8 *(multirezistentă)* ; avînd în vedere rezistența încrucișată*, un unic fR poate induce rezistență față de 10—15 antibiotice.

La stafilococ, un plasmid are în general un unic marker de R, dar o bacterie poate purta mai multe plasmide cu markeri diferiți de R.

Transferul fR la bacili gram-negativ: RTF are funcția unui factor de fertilitate inițiind conjugarea prin formare de pil-sexual ; fR se poate transfera apoi, fie în întregime, inclusiv RTF care este ultimul fragment al DNA care se transferă, fie parțial ; numărul de gene transferate depinde de durata conjugării. Așa se explică marea variație a spectrului de *rezistență dobîndită* de la tulpină la tulpină și chiar în sînul aceleiași tulpini (de la bacterii rezistente la un A., pînă la rezistente la practic toate antibioticele existente). Transferul fR la b. gram-negativ are loc între tulpini de aceeași specie, de același gen, de genuri diferite, între toate genu-



Bacterie purtătoare de factor de rezistență (FR)

Structura unui FR purtător de multipli determinanți de rezistența (r) și factor de transfer al rezistenței (RTF)

Transfer de FR prin conjugare

Fig. 51 : R infecție, schematizare.

---

* O tulpină rezistentă la o tetraciclină este rezistentă și la alte tetracicline etc.

rile familiei *Enterobacteriaceae* (*Salmonella, Shigella, Escherichia, Proteus* etc.) și între acestea și specii *Pseudomonas, Pasteurella, Vibrio* aparținînd altor familii.

Nu s-a pus în evidență circulația fR între bacterii gram-negativ și gram-pozitiv.

Transferul fR stafilococic este mediat de fagi temperați.

Atît pentru b. gram-negativ, ca și pentru stafilococ, la scurt timp după introducerea în practică a unui nou A. sau Ch. se constată selectarea de noi determinanți plasmidici de rezistență.

S-a demonstrat că R-infecția are loc cu ușurință oriunde există floră mixtă în mediu lichid: în intestin, pe mucoase, în urină, în produse patologice după recoltare, în eprubetă, în mediul extern.

Pierderea fR. În anumite condiții are loc pierderea spontană a fR. În produse patologice recoltate pentru diagnostic microbiologic și antibiogramă, pierderea fR este favorizată de învechire, pasaje repetate, cultivare pe medii și la temperaturi neadecvate, de anumiți factori chimici (fucsină, derivați acridinici, glucoză etc.).

Antibiograma și fR. Aspectele descrise privind cîștigarea și pierderea fR, impun o anumită orientare în practica antibiogramei la bolnav: *pentru ca antibiograma să oglindească situația reală a sensibilității la A. și Ch. a tulpinii de testat, este obligatorie*: (i) *însămînțarea produsului patologic în prima oră sau imediat după recoltare*; (ii) *practicarea antibiogramei pe cultură primară ori de cîte ori este posibil* (densitate suficientă a bacteriei infectante, produs necontaminat sau puțin contaminat).

D. SELECȚIA VARIANTELOR ȘI TRANSFORMAREA ÎN TULPINI

Au fost descrise pînă aici mecanismele de apariție a variantelor (mutanți, recombinanți, purtători de plasmide), *indivizi bacterieni cu caractere modificate, apăruți în sînul unei populații nemodificată*:

— într-o septicemie (infecție urinară, meningită, tuberculoză etc.) dată în majoritate de bacterii sensibile la A., pot exista unii indivizi bacterieni rezistenți;

— într-o populație de pneumococi necapsulați (nevirulenți) poate exista o mică rată de indivizi virulenți;

— oricare dintre numeroasele caractere fermentative, fracțiuni antigenice sau hapteinice care caracterizează o specie etc., poate fi supus variației; specii lactozo-pozitive pot conține mutanți sau recombinanți lactozo-negativi etc.

Selecția reprezintă mecanismul natural prin care o variantă (mutant, recombinant cromozomial sau purtător de plasmid) poate deveni populație bacteriană dominantă; ea are loc în prezența și sub presiunea factorului specific de selecție; exemple:

(i) fagul virulent specific lizează populația sensibilă și selectează varianta rezistentă care se înmulțește în continuare dînd populație rezistentă;

(ii) penicilina elimină populația de bacterii sensibile și selectează varianta rezistentă care se înmulțește și dă o populație (tulpină) rezistentă.

Din punctul de vedere al patologiei infecțioase, trei sînt categoriile de variante a căror selectare, în condiții naturale de infecție, pun importante probleme medicale, epidemiologice și terapeutice: (1) *selecția variantelor cu patogenitate crescută*, (2) *selecția variantelor rezistente sau multirezistente la antibiotice* și (3) *selectarea de „tulpini periculoase de spital"* (cu patogenitate crescută și totodată multirezistente).

1. SELECȚIA VARIANTELOR CU PATOGENITATE CRESCUTĂ ȘI TRANSFORMAREA ÎN TULPINI

Dintr-o populație nevirulentă de pneumococ, necapsulat, în care există indivizi capsulogeni, inoculată la șoarecele alb (specie natural foarte sensibilă la infecția pneumococică), se selectează varianta virulentă : populația nevirulentă este fagocitată, mutantul capsulogen rezistent fagocitozei se înmulțește și reface o populație virulentă care va omorî șoarecele. Din hemocultura făcută la necropsie este izolat numai pneumococul virulent capsulogen.

Spre deosebire de șoarece, omul are o mare rezistență naturală la infecție pneumococică, dar care poate fi deprimată de infecții virale*, alcool, răceală etc. ; acestea paralizează mecanismele de apărare și pneumococii de pe mucoasă ajung și se înmulțesc în alveole ; chiar în astfel de condiții, pneumococii nevirulenți sînt fagocitați ; dacă există variante capsulate, acestea se suprainmulțesc și dau boala, pneumonie ; dacă organismul este însă imunizat, anticorpii elimină și variantele virulente.

În concluzie, *selectarea tulpinilor patogene plecînd de la varianta cu patogenitate crescută are loc în organismul infectat*, mecanismele de apărare ale organismului reprezentînd factorii de selecție.

2. SELECȚIA BACTERIILOR MONO- ȘI MULTIREZISTENTE LA ANTIBIOTICE

a) **Monorezistență.** Prin fenomene de mutație și recombinări cromozomiale pot apare variante rezistente la un A. Factorul de selecție este antibioticul respectiv, care în cursul terapiei omoară populația sensibilă, selectînd mutantul rezistent.

b) **Selectarea de tulpini multirezistente prin monoterapie** este posibilă numai pentru bacteriile purtătoare de fR plasmidici cu mulți determinanți de rezistență ; o terapie cu ampicilină (de exemplu) într-o infecție dată de o populație bacteriană care conține indivizi purtători de fR (cu mulți determinanți de rezistență inclusiv pentru ampicilină), are ca rezultat omorîrea populației sensibile și selectarea variantei cu rezistență la multe antibiotice (multirezistentă) care devine populație (tulpină).

Acest fenomen al selecției de tulpini multirezistente prin monotorapie a fost subliniat pentru prima dată de cercetători japonezi (*Akiba*, 1957—1959) la bacilii dizenterici, observație care a dus la descoperirea fR plasmidic, fenomen schematizat în figura 52.

---

* Este demonstrat că o viroză respiratorie compromite funcția ciliară și a macrofagelor alveolare și produce hipersecreție favorabilă înmulțirii bacteriilor ajunse la acest nivel.

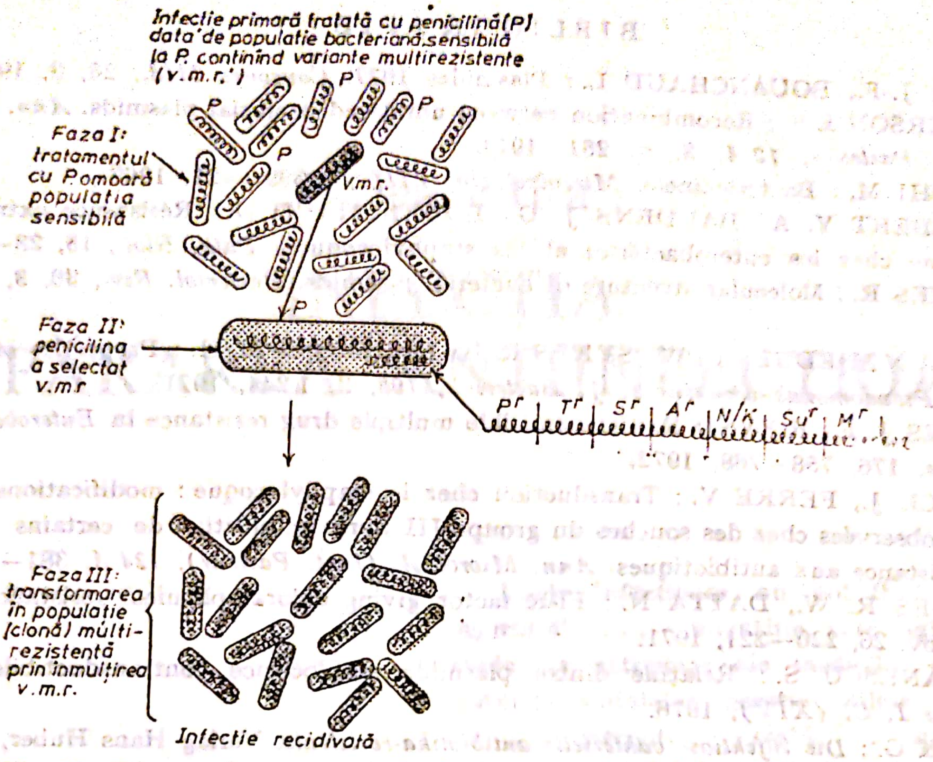

Infecție primară tratată cu penicilină (P) dată de populație bacteriană sensibilă la P. conținînd variante multirezistente (v.m.r.')
P
P
P
P
Faza I: tratamentul cu P omoară populația sensibilă
V.m.r.
P
Faza II: penicilina a selectat v.m.r
P^r
T^r
S^r
A^r
N/K
Su^r
M^r
Faza III: transformarea în populație (clonă) multi-rezistentă prin înmulțirea v.m.r.
Infecție recidivată

Fig. 52: Diagramă reprezentînd selectarea unei tulpini multirezistente la antibiotice, prin monoterapie cu penicilină.

3. SELECȚIA DE „TULPINI PERICULOASE DE SPITAL"

Tulpinile periculoase de spital sînt acelea care au patogenitatea maximă caracteristică speciei, fiind totodată multirezistente la antibiotice; ele aparțin speciilor purtătoare de fR, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Staphylococcus aureus*.

(i) Selecția de tulpini tot mai patogene poate avea loc în spitale, deoarece acolo se internează bolnavi, organisme adesea cu apărare antiinfecțioasă deficitară, vulnerabili; are loc mai ales „*în spitalele în care este permisă intercontaminarea*", pasajul tulpinilor de la bolnav la bolnav (ca în experiment, p. 174).

(ii) Selecția tulpinilor multirezistente are loc cu cea mai mare frecvență tot în spitale, pentru că cele mai multe tratamente antiinfecțioase se fac în spitale.

Ca urmare, în spital există posibilitatea ca o tulpină selectată ca patogenitate să devină purtătoare de fR. O astfel de tulpină este „periculoasă" deoarece (i) poate da îmbolnăviri grave (ii) și există puține posibilități de terapie; (iii) dacă pasajul de la bolnav la bolnav are loc (intercontaminare), pot apare „explozii epidemice intraspitalicești" (cap. XI).

Există ipoteza că plasmide de virulență s-ar putea recombina cu fR pentru a da *plasmid de virulență și multirezistență*, bacteriile purtătoare putînd fi selectate doar prin monoterapie; ceea ce este o perspectivă foarte pesimistă, dar teoretic posibilă.

BIBLIOGRAFIE

1. ACAR J.-F., BOUANCHAUD L.: Plasmides 1977. *Concours Méd.*, 26, 3, 1977.
2. ANDERSON E.S.: Recombination between unrelated bacterial plasmids. *Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur)*, *12 A*, 3, p. 251, 1974.
3. ANTOHI M.: Bacteriocinele. *Microbiologia*, *VIII*, *5*, 399–421, 1963.
4. CHABBERT Y. A., BAUDENS J. G., BOUANCHAUD D.: Résistance extra-chromosomique chez les entérobactéries et les staphylocoques. *Path. Biol.*, 15, 23–24, 1967.
5. CLOWES R.: Molecular structure of bacterial plasmids. *Bacteriol. Rev.*, 36, 3, 361–405, 1972.
6. DATTA N., HEDGES R. W., SYKES R. B., RICHMOND M. H.: Properties of R factor from *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.*, *108*, 3, 1 244, 1971.
7. DAVIES J. E., ROWND R.: Transmisible multiple drug resistance in *Enterobacteriaceae*. *Science*, 176, 758–768, 1972.
8. FOUACE J., FERRE V.: Transduction chez le staphylocoque: modifications des lysotypes observées chez des souches du groupe III après acquisition de certains caractères de résistance aux antibiotiques. *Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur)*, *124 A*, 381–392, 1973.
9. HEDGES R. W., DATTA N.: Fi-R factor giving chloramphenicol resistance. *Nature*, 234, nov. 26, 220–221, 1971.
10. IORDĂNESCU S.: Relațiile dintre plasmide stafilococice contransductibile. *Ses. St. Anuala I. C. (XIV)*, 1976.
11. LEBEK G.: *Die infektiose bakterielle antibiotika-resistentz.* Verlag Hans Huber, Bern und Stuttgard, 1969.
12. MAY J. W., HOUGHTON R. H., PERRET G. J.: Detection of temperature-sensitive tetracycline-resistance plasmids in *Staphylococcus* aureus. *Antimicrob. Ag. Chemother.*, *8*, 5, p. 606, 1975.
13. MORARU I., ANTOHI S. T.: *Introducere în genetica moleculară*, Ed. Med., Bucureşti, 1964.
14. NAJER A., KUNICK-GOLDFINGER J. H. W.: Mechanism of conjugation and recombination in bacteria. XIII Heterogenic recombinant clones and the fate of transferred fragment of *Hfr* chromosome. *Acta Microbiol. Polonica*, *Ser. A*, 6, 23, 23–36, 1974.
15. SATO G., KODAMA H., TERAKADO N.: Detection of an R factor showing temperature sensitive transfer in *Salmonella typhimurium* isolated from calves. *Antimicrob. Ag. Chemother.*, *5*, 5, p. 541, 1976.
16. SAWADA Y., GINUMA S., TAI M., IYOBE S., MITSUHASHI S.: Plasmid-mediated penicillin beta-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Ag. Chemother.*, *9*, 1, p. 55, 1976.
17. TANAKA T., IKEMURA K., TSUNODA M., SASAGAWA I., MITSUHASHI S.: Drug resistance and distribution of R factor in *Salmonella* strains. *Antimicrob. Ag. Chemother.*, *9*, 1, p. 61, 1976.
18. TURCU T.: Rezistența la antibiotice. II Factorii R la E. coli (Studiu pe 210 bolnavi), *Bacteriol. Virusol. Parazitol. Epidemiol.*, *XIX*, 2, 244–246, 1974.
19. WLODARCZYK M., BEDNARSKA M., KRACZKIEWIEZ A., ZIOLKOWSKA J., WLADYSLAW J. N., KUNICKI-GOLDFINGER: Mecanism of conjugation and recombination in bacteria. XIV Timing of the recombination and of the succeeding replication recombinant chromosome. *Acta Microbiol. Polonica*, *Ser. A*, 6, 23, 23–36, 1974.
20. * * *: A Glossary of genetics and cytogenetics. Rieger R., Michaelis A., Green M. M. (Eds) Springer–Verlag, Berlin–NY, 1968.
21. * * *: *Bacterial plasmid and antibiotic resistance.* First International Symposium Infectious antibiotic resistance. Castle of Smolenice, Czechoslovakia, Kroméry V., Watanabe T. (Editors), 1971.

Partea a II-a

INFECŢIA ŞI APĂRAREA ANTIINFECŢIOASĂ

> ,,Bolile infecţioase nu pot fi tratate cu uşurinţă” . . . “infecţiile care aglomerează sălile de aşteptare ale medicilor şi umplu paturile spitalelor noastre. Zilele de muncă . . . pierdute... costă . . . aproximativ şase bilioane de dolari în fiecare an”. (*Th. Cooper:* J. Inf. Dis., *134*, 5. 510. 1976).

XI. INFECȚIA

Prin proces infecțios se înțelege conflictul care are loc între microb și organism, microbul armat cu factori de patogenitate și organismul cu mecanisme de apărare antiinfecțioasă; infecția este precedată de *contaminarea* la *poarta de intrare* și *colonizare.*

Contaminarea este întîlnirea organismului cu microbul patogen și are loc prin depunerea acestuia pe învelișuri (tegumente și mucoasele care căptușesc cavitățile natural deschise), sau pătrunderea prin leziuni (soluții de continuitate între mediul intern al organismului și mediul extern).

În raport cu sursa de infecție și calea de contaminare, diferențiem infecții aerogene, hidrice, alimentare, prin înțepătură de insectă, prin mușcătură de animal, prin plagă murdărită cu pămînt, ca și contaminări iatrogene, prin instrumente medicale (seringă, catetere, endoscoape etc.).

Nu orice contaminare este urmată de infecție (fig. 53); apariția sau nu a infecției este condiționată de (i) gradul de patogenitate și numărul bacteriilor de contaminare (cap. XII), (ii) de starea de rezistență a organismului, la rîndul ei influențată de factori de mediu extern (cap. XIII, XIV, XIX) și de (iii) accesul microbului la poarta de intrare.

Poarta de intrare este locul de colonizare primară și pătrundere a microbului în organism; poate fi o mucoasă sau tegumentul, intacte sau lezate. Unele specii au poartă de intrare unică și foarte specifică (bacilul tific inițiază infecție numai cînd ajunge în intestinul subțire, în timp ce meningococul nu dă infecții pe această cale), altele au porți de intrare multiple. Aceste diferențe sînt multiplu condiționate:

de sursa și calea de contaminare (bacteridia cărbunoasă rezistentă în mediul extern poate infecta pe diferite căi — a aerului, digestivă, cutanată — dînd infecții cu diferite porți de intrare; bacilul Koch uman dă în special infecții cu poartă de

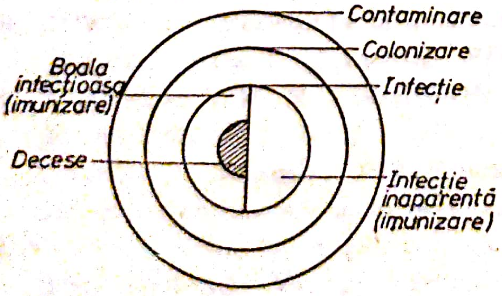
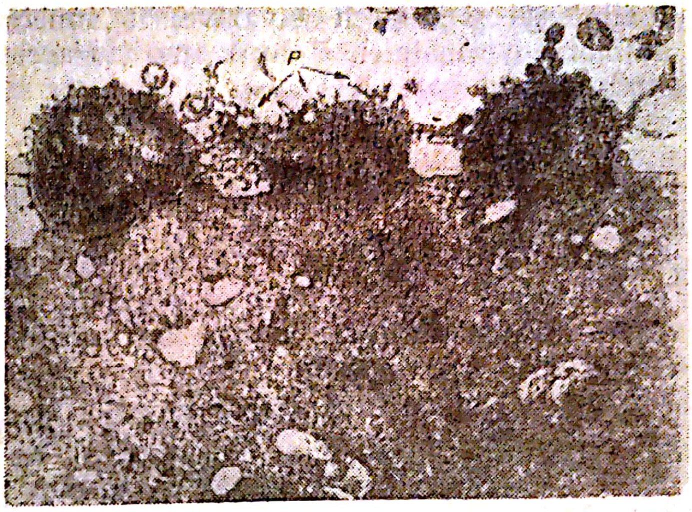

Contaminare
Colonizare
Boala infecțioasă (imunizare)
Infecție
Decese
Infecție inaparentă (imunizare)

Fig. 53: Diagramă reprezentînd raportul între diferitele relații microb și gazdă umană sau animală.

Fig. 54: Electronomicrografie care arată gonococi strîns atașați la suprafața unei celule epiteliale uretrale: pe suprafața gonococilor se văd 40–50 pili (P). (*M.E. Ward, P.Y. Watt; J. Inf.Dis.* *126*, 601–604, 1972).



intrare pulmonară, iar bacilul Koch bovin dă în special infecții digestive, prin lapte:

de condițiile de înmulțire oferite de fiecare mucoasă sau tegument (factori speciali de creștere prezenți mai ales în exudatul de pe mucoase, *p*H, temperatură, grad de umiditate);

de existența unor receptori celulari specifci pe care microbii se *fixează* în mod selectiv, prin structuri speciale de suprafață, cum ar fi pilii bacterieni fig. 54).

Bacterii cu poarta de intrare unică:

- *Salmonella typhi* pătrunde numai prin mucoasa intestinului subțire;
- speciile *Shigella* infectează numai prin mucoasa colonului;
- *Bordetella pertussis* pătrunde prin mucoasa bronșică etc.;
- *Mycoplasma pneumoniae* se atașează la receptorii de acid neuraminic de pe suprafata celulei epiteliului ciliat etc.

Bacterii cu porți de intrare multiple:

- *Myc. tuberculosis* inițiază infecție indiferent de poarta de intrare;
- *Neisseria gonorrhoeae* pătrunde cel mai frecvent prin mucoasa uretrală și a colului uterin, dar poate pătrunde și prin conjunctiva oculară, mucoasa faringiană, anală.

Colonizarea sau înmulțirea la poarta de intrare permite atingerea condiției *cantitate*; numărul bacteriilor care contaminează este uneori prea redus pentru a iniția imediat infecția. Indiferent de gradul ei de patogenitate, este necesară adaptarea bacteriei la noile condiții oferite la poarta de intrare: cînd acestea sînt favorabile, bacteria se înmulțește și secretă factori enzimatici de virulență și uneori toxine care vor determina leziunea inițială. Cu cît tulpina este mai patogenă, cu atît numărul de bacterii necesar pentru a iniția infecția este mai mic, și invers. Prin intermediul pililor specifici, bacilii dizenterici colonizează pe mucoasă colonului; bacilul tetanic colonizează în plăgi anaerobe etc.

A. ALTERĂRI DE ETIOLOGIE BACTERIANĂ

În organismul infectat, bacteriile pot determina *alterări primare* sau *directe* datorite factorilor de patogenitate cu care sînt dotate (ca intoxicații, toxiinfecţii şi infecţii invazive) şi, uneori, *alterări secundare*, mediate de anticorpi (se instalează după apariţia acestora), numite şi fenomene de sensibilizare (v. cap. XII).

1. INTOXICAŢII ŞI TOXIINFECŢII BACTERIENE

Un număr redus de bacterii sînt toxigene, capabile să elibereze otrăvuri puternice numite toxine, care paralizează funcţia anumitor celule de importanţă vitală, pentru care au afinitate specială de fixare, determinînd boala.

Intoxicaţia fără infecţie este o excepţie, cazul botulismului dat de *C. botulinum*; bacteria se înmulţeşte în afara organismului, într-un aliment; toxina ingerată odată cu alimentul difuzează în organism determinînd o intoxicaţie, boala. Intoxicaţii similare pot fi date de unele toxine micotice, *alfatoxine*.

Toxiinfecţii. Sînt boli date de bacterii care se înmulţesc la poarta de intrare, unde eliberează toxina care difuzează în organism:

Clostridium tetani se înmulţeşte în plaga anaerobă şi toxina eliberată difuzează, fixîndu-se pe celula nervoasă motorie din coarnele anterioare ale măduvei, dînd contractura tetanică;

Corynebacterium diphteriae se înmulţeşte în mucoasa faringiană, iar toxina difuzează şi e fixează pe celula nervoasă, pe miofibrila cardiacă şi suprarenală.

Toxiinfecţii alimentare prin aliment provenit de la animal infectat (carne, lapte, ouă) cel mai adesea cu *Salmonella*, sau contaminat în timpul manipulării cu *S. aureus*, *B. cereus* şi alte specii care se pot înmulţi excesiv cu acumulare concomitentă de enterotoxine, cataboliţi, endotoxine, echivalînd cu ingerare de culturi microbiene.

2. INFECŢII INVAZIVE

Cele mai multe bacterii sînt dotate cu virulenţă, factori care le asigură posibilităţi de a depăşi învelişurile şi de a invada organismul; ele pot da infecţii la poarta de intrare, generalizări şi localizări secundare.

Atît la sediile de localizare primară cît şi secundară, ca urmare a înmulţirii şi eliberării de cataboliţi, bacteriile determină leziuni tisulare (prin enzime cu variate posibilităţi de alterare, uneori şi veritabile toxine) şi modificări chimice umorale. Consecutiv, în jurul fiecărui focar de infecţie se constituie focare de inflamaţie — reacţia de apărare celulară a organismului cu aglomerare de fagocite, microfage polimorfonucleare (PN) şi apoi macrofage (M) — ceea ce duce uneori la supuraţie, formare de puroi.

a) **Infecţii la poarta de intrare**, tegumente şi mucoasele cavităţilor natural deschise. Majoritatea bacteriilor virulente determină procese inflamatorii la poarta de intrare: infecţii cutanate, infecţii ale tractusului respirator superior (oro- şi nazofaringiene), şi inferior (bronhopulmonare), ale tractusului gastrointestinal, genital, urinar; aceste infecţii se pot uneori generaliza.

b) **Infecții generalizate** Pornind de la poarta de intrare, infecțiile se pot generaliza prin contiguitate, pe cale limfatică și sanguină:

(i) *Extinderea prin contiguitate* are loc din aproape în aproape, în suprafață sau/și în profunzime, dînd placarde inflamatorii, ca în erizipel, perimuscular, dînd flegmoane, abcese. De pe mucoasa respiratorie superioară, bacteriile progresează spre bronșii (bronșite), spre pulmoni (pneumonii), se propagă la pleură (pleurite). Procese inflamatorii apendiculare generează peritonite. Actinomicete invadează mucoasa, mai ales bucală, apoi părțile moi periosoase, osul etc.

(ii) *Generalizarea pe cale limfatică* se datorează bacteriilor preluate în curentul limfatic de microfage și macrofage, determinînd uneori inflamația vaselor, limfangite, a ganglionilor regionali, limfadenite, progresînd cîteodată pînă la revărsare prin canalul toracic în sînge dînd bacteriemii.

(iii) *Generalizare pe cale sanguină*, bacteriemie, septicemie:

bacteriemie numim prezența bacteriilor în sînge în număr mic; ea este fie *discontinuă*, cînd bacteriile sînt mobilizate dintr-un focar septic acut (pneumonie), sau subacut (e. b. s., osteomielită), fie *fugară*, cînd bacteriile sînt aspirate printr-o ruptură vasculară posttraumatică, chirurgicală, postextracțională;

septicemie numim prezența bacteriilor în sînge, în cantitate mare și continuu, datorată descărcărilor dintr-un focar septic vascular, trombo-flebitic, însoțită cel mai adesea de ,,toxemie'', datorată difuziei concomitent de exoenzime-agresine, toxine, produși de catabolism și alterare tisulară și ,,endotoxină'' eliberată prin autoliza sau liza bacteriană (în raport cu dotarea fiecărei specii în factori de virulență și toxine).

Leziunea la poarta de intrare poate lipsi uneori, bacteriile fiind absorbite în sînge prin rupturi vasculare, determinînd bacteriemii cu aceleași posibilități de localizări secundare:

— în infecții transmise de insecte hematofage, microbii pot pătrunde direct în sînge prin înțepătură și etapa ,,infecție locală'' lipsește uneori complet (febră recurentă, tifos exantematic);

— există bacterii care pătrund prin mucoase și tegumente intacte, infecția manifestîndu-se de la început bacteriemic-septicemic, ca în leptospiroze;

— bacterii virulente sau nevirulente pot fi *introduse* în curentul circulator prin instrumentații medicale (injecții intravenoase, cateterisme vasculare, intervenții chirurgicale executate defectuos din punct de vedere al regulilor de asepsie etc.).

c) **Localizări secundare**; odată ajunse în circulație, majoritatea bacteriilor se pot localiza în orice țesut sau organ, inițiind noi procese inflamatorii. Localizările bacteriene secundare pot fi unice, datorate mai ales bacteriemiilor, sau multiple, chiar miliare, datorate septicemiilor: (i) *localizările unice* sînt frecvente pe valvula tricuspidă și pulmonare (prin embolusuri ajunse în și pompate de inima dreapta), și (prin sîngele trimis de inima stîngă, după trecerea prin pulmon, sau de la infecție pulmonară) în patul vascular distal, putînd fi cerebrale, meningeale, hepatice, renale, suprarenale, articulare, osoase, cutanate; (ii) *localizările multiple*, sau miliare, sînt numite fie *septicopioemii*, cînd sînt date de bacterii pioemice cu înmulțire extracelulară, sau *granulii*, cînd sînt date de bacterii facultativ intracelulare capabile să inducă focare de inflamație monocitară.

Orice focar infecţios secundar devine la rîndul lui sursă de bacteriemii, sau septicemii (dacă interesează vase).

Reiese că în practica diagnosticului microbiologic clinic, hemocultura este testul cel mai valoros, atît pentru septicemii, cît şi pentru infecţiile bacteriemice localizate, mai ales profund.

În unele infecţii, atît leziunea locală cît şi pătrunderea microbului în sînge pot evolua inaparent, puţin sau deloc manifeste, şi infecţia devine clinică numai în etapa de localizare secundară: endocardita infecţioasă subacută, osteomielite, abces perinefretic, artrită etc.

3. FENOMENE DE SENSIBILIZARE

Fenomene de sensibilizare alergică sau imunopatologice, se instalează în unele infecţii după apariţia anticorpilor; aceste fenomene pot determina:

cronicizarea alergică a infecţiei, prin reacţii de sensibilizare mediate de celule imunologic competente: sînt procese inflamatorii monocitare (cu limfocite şi macrofage), prea masive, împiedicînd uneori sterilizarea focarelor de infecţie şi favorizînd necroze tisulare (ca în tuberculoză, bruceloză, sifilis terţiar etc.), cronicizare;

complicaţii alergice postinfecţioase (tardive), care pot apărea după sterilizarea bacteriologică a organismului, datorită persistenţei unor antigene bacteriene în condiţiile apariţiei anticorpilor, sau a formării de autoantigene consecutiv alterărilor produse de toxinele şi enzimele bacteriene; aceste complicaţii pot evolua, la rîndul lor, acut (ca glomerulonefrita şi reumatismul articular acut poststreptococic) sau cronic (cardita poststreptococică). Astfel de complicaţii pot apărea şi consecutiv infecţiilor streptococice inaparente.

B. POSIBILITĂŢI DE EVOLUŢIE A INFECŢIEI BACTERIENE

Infecţia poate evolua inaparent sau aparent, ca boală infecţioasă (tabelul 20 a şi b).

1. INFECŢIA INAPARENTĂ

Este un conflict în care alterările sînt cu totul minore încît evoluează *fără simptome*, dar în timpul căruia au loc modificări celulare şi umorale caracteristice imunităţii, ceea ce atestă că microbul a pătruns în organism şi a fost preluat şi prelucrat de celulele sistemului imunocompetent. De evoluţia infecţiei inaparente luăm cunoştinţă prin (i) *semne imunologice*, instalarea rezistenţei la o nouă infecţie cu acelaşi microb, sau apariţia de

Tabelul 20a

Posibilităţi de manifestare majoră a infecţiei şi semne

- *Infecţii inaparente*
  - semne imunologice (anticorpi umorali şi celulari)
    - pozitivarea reacţiilor serologice (aglutinare, RFC, precipitare etc.);
    - pozitivarea i.d.r. de evidenţiere a
      - imunităţii (teste de neutralizare), sensibilizării de tip imediat şi tip întîrziat;
    - rezistenţă la o nouă infecţie (cu acelaşi microb);
- *Infecţii aparente*[1]
  - semne imunologice: aceleaşi ca şi în infecţia inaparentă;
  - semne clinice
    - subiective (cefalee, oboseală, indispoziţie, inapetenţă etc.);
    - obiective
      - nespecifice (comune tuturor infecţiilor): febră, modificări de leucogramă;
      - specifice
        - speciei microbiene: *entităţi clinice*
          - tifos exantematic, sifilis, febră tifoidă, difterie, tetanos etc.
        - organului infectat: *sindroame infecţioase* [2].

---

[1] Multe sindroame şi chiar entităţi clinice pot evolua, fie ca infecţii acute, fie cronice, uneori cu faze de infecţii latente.

[2] ITRS = infecţiile tractusului respirator superior (faringite sau angine, laringite sau crup, traheite) şi ale mucoaselor de vecinătate (sinuzite, otite medii, otite interne, mastoidite);
ITRI = infecţiile tractusului respirator inferior (pneumonii, bronhopneumonii);
ITD = ,, ,, digestiv (enterite, colecistite);
ITU = ,, ,, urinar (uretrite, cistite, nefrite);
Infecţii cutanate şi ale anexelor pielii (epidermite, dermite, foliculite, hidrosadenite, acnee pustuloasă); otite externe; conjunctivite.
Localizări infecţioase secundare: meningite, endocardite, infecţii ale seroaselor (pleurite, pleurezii, pericardite, peritonite, artrite); abcese în organe parenchimatoase (de ficat, suprarenală, pulmonare, encefal, abcese osoase (osteomielite, periostite).

Tabelul 20b

Posibilități de evoluție epidemiologică a infecțiilor bacteriene (b.)

Infecții în populația generală (extraspitalicești)	pandemice: ciumă, holeră;		
	epidemice	în teritoriu	dizenterie, febre tifoide, leptospiroză, tularemie, meningită cerebrospinală epidemică (MCSE), difterie, tifos exantematic, febră recurentă;
		în colectivități închise	*Str. pyogenes* A (scarlatină, angine), *Salmonella* (toxiinfecții alimentare), *Shigella* (dizenterii), *E. coli* enteropatogen (enterite), MCSE;
	endemice: febrele tifoide, zooantroponozele, lepra, MCSE;		
	sporadice: *toate infecțiile date de bacteriile patogene* (înalt-, condiționat- și accidental-patogene).		
Infecții intraspitalicești (nozocomiale[1], sau și iatrogene[2])	cu potențial epidemigen, prin bacterii	înalt patogene	*S. pyogenes A*; *Shigella* *E. coli* enteropatogen, *Salmonella*,
		condiționat patogene	*K. pneumoniae*, *S. aureus* *Ps. aeruginosa* *E. coli*;
	fără ,, ,, ,, bacterii	accidental patogene	*S. epidermidis*, *P. acnes* și alte b. rezidente pe tegumente.

---

[1] Infecții apărute în, sau agravate de șederea în spital.

[2] ,, ,, din cauza medicului.

sensibilizări şi prin (ii) *teste imunologice*, pozitivarea reacţiilor serologice (apariţia şi creşterea titrului de imunoglobuline) şi de punere în evidenţă a stării de sensibilizare alergică tip imediat şi întîrziat (prin intradermoreacţii, prin teste de sensibilizare celulară *in vitro*); (cap. XX).

2. BOALA INFECŢIOASĂ SAU INFECŢIA APARENTĂ

Este infecţia care se manifestă şi printr-un ansamblu de *semne clinice* (subiective şi obiective, nespecifice şi specifice), consecinţă a alterărilor produse de microbi şi produse microbiene:

Semne nespecifice subiective (stare de rău, slăbiciune, imposibilitate de concentrare, curbatură — dureri musculare şi articulare, anorexie, cefalee etc.) şi *obiective* (febră, frisoane, modificări hematologice — leucocitoză cu neutrofilie, cardiovasculare — tahicardie, mai rar bradicardie etc.).

Semne specifice microbului infectant (Corynebacterium diphteriae determină false membrane foarte caracteristice pe mucoasă, în special faringiană; *Rickettsia prowazekii* determină exantem şi curbă termică tipică etc.; *Clostridium tetani* produce contracturile spasmodice ale musculaturii striate etc.);

Semne specifice de organ: tuse în infecţii bronhopulmonare şi pleurale, diaree în infecţie intestinală etc., micţiuni frecvente în ITU (infecţia tractusului urinar) etc;

Semne imunologic specifice (aceleaşi ca în infecţia inaparentă).

Deoarece evoluţia infecţiei inaparente este în marea majoritate a cazurilor ignorată, în vorbirea curentă prin *infecţie* se înţelege cel mai adesea *boală infecţioasă*.

Din punct de vedere al gradului de specificitate a factorilor microbieni de patogenitate, diferenţiem *entităţi clinice* şi *sindroame*.

Entităţi clinice infecţioase

Unele m. sînt dotate cu anumiţi factori de patogenitate foarte caracteristici speciei (toxină tetanică), cu specificitate de fixare şi alterare a unui organ, ţesut, celule şi a funcţiilor respective; bolile date de astfel de m. îmbracă tablouri clinice care le individualizează printre alte infecţii, ceea ce numim *entităţi clinice*. Ca urmare, *pe baza diagnosticului clinic poate fi dedus şi diagnosticul etiologic*, precizarea speciei infectante, şi uneori, şi a terapiei specifice. De exemplu, pe baza simptomelor, este posibil diagnosticul de tetanos, deci de bacil şi toxină tetanică şi stabilirea terapiei specifice (antitoxină tetanică).

Majoritatea bacteriilor înalt patogene determină entităţi clinice: difterie, tuse convulsivă etc.

Sindroame infecţioase

Majoritatea bacteriilor şi a fungilor condiţionat şi accidental patogeni pot contamina pe căi foarte diferite şi boala infecţioasă evoluează cu *simptome* *caracteristice de organ*, determinînd *sindrome infecţioase* : pneumonie, bronşită, infecţia tractusului urinar, supuraţie, diaree, meningită etc. Oricare din aceste sindrome poate fi determinat de multe specii de bacterii, virusuri, micete şi chiar protozoare; invers, o aceeaşi specie, *Staphylococcus aureus*, de exemplu, poate determina numeroase sindrome (piodermite, bronhopneumonii, infecţii intestinale, ITU, genitale, meningite, septicemii etc.).

În astfel de sindroame, diagnosticul etiologic rareori poate fi dedus pe baza simptomelor clinice; este necesar examenul microbiologic şi/sau imunoserologic.

C. ETAPELE BOLII INFECŢIOASE

Incubaţia este perioada care se scurge din momentul contaminării pînă la apariţia primelor simptome de boală. Durata incubaţiei este variabilă în raport de specia microbiană infectantă, gradul ei de patogenitate, masivitatea contaminării, gradul de rezistenţă a organismului. Durata incubaţiei se măsoară în zile, săptămîni, luni şi chiar ore, şi este caracteristică pentru infecţiile exogene prin bacterii înalt patogene.

Pentru *bacteriile cu patogenitate mare*, provenite dintr-o sursă externă (alt individ, animal, din mediul extern) şi ajunse pe organism neimunizat, este posibilă determinarea destul de exactă a timpului mediu care se scurge din momentul contaminării pînă la debutul bolii; acestea sînt numite *infecţii exogene*.

Bacteriile cu potenţial redus şi foarte redus de patogenitate pot coloniza îndelung, şi chiar toată viaţa, mucoasele sau tegumentele organismului neimunizat fără să determine infecţii, ele alcătuiesc flora normală rezidentă sau flotantă. Depăşirea suprafeţelor şi pătrunderea în ţesuturi, *trecerea de la comensalism la parazitism*, necesită intervenţia unor importanţi factori de alterare a acestor suprafeţe. Unele specii ale florei normale pot iniţia infecţia, fie în zona de colonizare iniţială — ca de exemplu stafilococul din foliculul pilos care iniţiază o foliculită, fie prin contaminarea şi colonizarea altei zone — stafilococul din vestibulul nazal care poate determina bronhopneumonie, infectarea unei plăgi cutanate etc. Dacă factori favorizanţi nu există, nu apar infecţii, de aceea aceste specii sînt denumite *oportuniste* sau *condiţionat patogene*; infecţiile generate de astfel de specii, flotante sau chiar rezidente ale mucoaselor sau tegumentelor, sînt numite *infecţii endogene*.

Debutul bolii este caracterizat prin apariţia semnelor clinice nespecifice subiective şi obiective : febră, indispoziţie, cefalee, frison, algii : acest debut poate fi brusc sau insidios (prodromal).

Perioada de stare, în care, pentru multe boli infectocontagioase, se desfăşoară un tablou clinic cu semne caracteristice : curbă febrilă cu anumite particularităţi, modificări caracteristice ale leucogramei, fenomene respiratorii, circulatorii, digestive, nervoase, diferite erupţii (exanteme şi enanteme) etc., este posibil diagnosticul de sindrom (respirator, digestiv etc.), sau de entitate clinică cu precizarea etiologiei; este perioada decisivă pentru *prognosticul* bolii, în care poate interveni, eventual, *decesul*.

Defervescența. În cazul evoluției favorabile, urmează scăderea febrei și dispariția simptomelor care au caracterizat perioada de stare, ceea ce corespunde cu *sterilizarea bacteriologică* a organismului; defervescența se poate instala brusc, *in crisis* (ca în pneumonia pneumococică) sau lent, progresiv, *in lisis* (ca în febra tifoidă).

Convalescența este faza în care are loc repararea leziunilor.

Vindecarea poate fi completă sau cu sechele, în raport cu gravitatea leziunilor produse de procesul infecțios; de exemplu, un procent de meningite bacteriene „vindecate" bacteriologic, lasă sechele clinice motorii sau și a capacității intelectuale, definitive.

Consecințele infecției

Imunizarea. În timpul infecției aparente (ca și inaparente) are loc producerea de anticorpi și instalarea stării de rezistență specifică, față de microbul care a determinat infecția, numită *imunitate*, rezistență la reîmbolnăvirea cu același microb. Instalarea imunității duce, în cele mai numeroase cazuri, la *sterilizarea bacteriologică* a organismului, eliminarea completă a microbului infectant.

Starea de sensibilizare se instalează concomitent cu imunitatea.

Infecția cronică. Uneori, vindecarea clinică are loc fără sterilizare bacteriologică completă; în organism rămîn focare sau un focar infecțios, adesea bine delimitat, de obicei profund, inaccesibil factorilor de apărare ai organismului și medicației. Astfel de focare microbiene pot persista în pereții arterelor mari, în SNC, în viscere parenchimatoase, sinusuri osoase, în diferite glande bine încapsulate (prostată, glande sinusale) etc. Ele pot rămîne mute din punct de vedere clinic, ca *infecții latente* (sifilis latent) sau pot evolua ca *infecții cronice*, cu reacutizări intermitente (ca în bruceloză, tuberculoză, sifilis terțiar). Uneori, astfel de focare infecțioase se complică cu fenomene de *sensibilizare de tip celular*: microbii constituie surse de antigene eliberate treptat-intermitent, spre care se mobilizează și se acumulează celule specific sensibilizate formînd importante infiltrații monocitare, care duc uneori la necroze tisulare (cap. XX).

Starea de purtător sănătos: o persoană imunizată poate tolera pe mucoasele sale bacteria patogenă, putînd fi sursă de infecție pentru organisme susceptibile, neimunizate. Fostul bolnav de febră tifoidă poate rămîne purtător de bacili tifici în vezicula biliară, periculos, deoarece bacilii se înmulțesc bine în bilă, fiind eliminați intermitent în intestin, prin materiile fecale, devenind sursă de contaminare a apei, alimentelor, a persoanelor din anturaj. Un individ imunizat antidifteric poate rămîne purtător de bacil difteric toxigen.

Terapia corectă bazată pe diagnostic etiologic precoce în infecție bacteriană poate reduce azi aceste etape periculoase.

D. NOŢIUNI DE EPIDEMIOLOGIE A INFECŢIEI

Producerea infecţiei presupune existenţa sursei şi a căilor de contaminare:

1. SURSE DE INFECŢIE

Sursa de infecţie este reprezentată de *habitatul natural* al microbului, mediul natural sau mediile în care are loc înmulţirea.

În *infecţiile exogene*, sursele principale de infecţie sînt reprezentate de omul bolnav, purtătorul sănătos şi de animale infectate, în cazul zooantroponozelor.

Pentru unele bacterii saprofite, care *se dezvoltă* în condiţii de mediu extern, apa, solul şi mai ales alimentele contaminate de excrete şi secreţii patologice (spută, materii fecale, urină, puroi etc.) pot reprezenta reale surse de infecţie.

În *infecţiile endogene*, bacteria, levura, provine din flora comensală sau saprofită a învelişurilor sau colonului.

2. CĂI DE CONTAMINARE

Contaminarea poate avea loc prin:

(i) *contact direct* cu sursa (*mucoasă-mucoasă*, ca în infecţiile veneriene; *tegument-tegument* şi *tegument-mucoasă*, mecanismul frecvent de contaminare şi autocontaminare în infecţiile date de microorganisme enterice prezente în intestin, în care mîna murdară joacă rolul principal în transferul fecal-oral);

(ii) *contact indirect*, prin intermediul unui factor de mediu extern contaminat de excretele şi secreţiile bolnavilor, sau purtătorilor sănătoşi, în care microbii nu se înmulţesc, dar care îi înmagazinează şi transportă, de la sursă, la alţi indivizi:

solul conservă în special spori de ciuperci şi bacterii (tetanic, bacilii gangrenei gazoase, bacteridie cărbunoasă), putînd fi factor de contaminare a plăgilor;

apa conservă temporar şi transmite vibrion holeric, bacilul tific, virusul hepatitei A, poliomielitei, putînd determina infecţii digestive; prin scăldat, determină şi infecţii cu alte porţi de intrare;

aerul umed, cu ceaţă, permite supravieţuirea şi transmite virusurile şi bacteriile infecţiilor respiratorii (gripă, guturai, tuse convulsivă, rujeolă, rubeolă, varicelă, scarlatină etc.);

alimentele pot fi *surse* (permit înmulţirea unor bacterii şi elaborarea de toxine determinînd toxiinfecţiile alimentare, botulinică, stafilococică, prin salmonele etc.), sau *căi* de transport, (bacilul Koch bovin este vehiculat prin lapte etc.) (v. cap. V, B);

obiectele de îmbrăcăminte, lenjerie de pat, veselă, tot mobilierul şi obiectele din încăperea bolnavului şi purtătorului sănătos, cantonează microbi şi pot contamina persoane susceptibile;

insectele hematofage, prin muşcături, transmit agenţii anumitor infecţii, ca febră recurentă şi tifos exantematic (păduche), pestă (purice), encefalite virale (căpuşe, ţînţari), de la individ la individ, de la animal la om; uneori insectele pot fi şi surse de infecţie (malarie, ţînţari).

3. TIPURI DE EVOLUŢIE EPIDEMIOLOGICĂ A INFECŢIEI

Boala infecţioasă poate evolua:

sporadic, cazuri izolate în timp şi în spaţiu;

endemic, cazuri sporadice de infecţii care se menţin într-o colectivitate, apărînd cu destulă regularitate la intervale variabile, uneori sezonier;

epidemic, în interval scurt apar un număr mare de îmbolnăviri într-o colectivitate (cămin, cazarmă, sat, regiune, ţară), epidemii de scarlatină, rujeolă, gripă etc.; un caz special este ,,*infecţia epidemică de spital*'', explozii infecţioase contractate în timpul şi din cauza spitalizării, de a cărei apariţie este responsabil medicul şi condiţiile de spitalizare;

pandemic, boala infecţioasă se extinde într-un interval scurt pe un teritoriu foarte mare: ţări, continente, glob (pandemii de gripă).

4. CAUZE DE DISPARIŢIE ŞI REAPARIŢIE A ,,INFECŢIEI DE SPITAL''

Supuraţia de spital a apărut odată cu spitalele. Descoperirea originii lor infecţioase de către *Pasteur* şi, ca urmare, introducerea asepsiei în spitale a determinat o considerabilă stăvilire a acestor infecţii, chiar dispariţia lor în unele spitale; pentru ca, în ultimile două decenii, această infecţie să redevină frecventă, îmbrăcînd uneori forme clinice foarte grave, incurabile cu toate mijloacele terapeutice actuale; fie sporadice, fie ,,explozii epidemice intraspitaliceşti''; este ceea ce numim ,,*hospitalism infecţios modern*''.

Vom analiza în cele ce urmează (a) cauzele infecţiei de spital, (b) cauzele dispariţiei, (c) reapariţiei şi (d) noi măsuri de prevenire.

a) **Supuraţia de spital.** În epoca antepasteuriană cauza lor fiind ignorată, infecţiile de spital erau cunoscute sub denumirea de *supuraţii de spital*, *gangrena de spital*, *sepsia postoperatorie* şi evoluau nestînjenite cu caracter foarte grav şi contagios, determinînd adevărate epidemii.

Supuraţiile apăreau mai ales în *plăgi mari traumatice de război*, în *plăgi chirurgicale*, în *plaga uterină post abortum* şi *post partum*; ele omorau pînă la 80% din operaţii şi internaţii cu plăgi traumatice, iar cei mai mulţi supravieţuitori rămîneau cu infecţii latente care se reacutizau din timp în timp, sau cu supuraţii cronice care durau toată viaţa, sau se vindecau cu preţul unor intervenţii mutilante şi invalidante (amputaţii); *febra puerperală* omora 5—8 din 100 de lehuze internate ca femei sănătoase; la Paris, maternitatea era numită ,,casa crimelor''; mortalitatea nou-născuţilor nici nu era înregistrată.

b) **Cauze de dispariţie a supuraţiilor de spital.** Încă *înainte de Pasteur*, au existat medici clarvăzători care au realizat relaţia între frecvenţa supuraţiilor şi gradul de aglomerare şi murdărie din spitale. Astfel, *Semmelweis* (asistent la clinica de obstetrică din Viena), în 1847, era convins că febra puerperală este cauzată de o ,,substanţă organică putridă'' introdusă în organismul femeii sănătoase de mîna murdară a medicului şi a infirmierei şi, ca urmare, este primul obstetrician care a folosit *peria de unghii* *și spălarea cu antiseptic* (clor lichid) cu foarte bune rezultate în protecția lehuzelor de infecție. *Eugène Koeberlé*, chirurg din Strasbourg, devenea în 1865 fondatorul chirurgiei viscerale datorită faptului că a înțeles necesitatea „*chirurgiei curate*", ceea ce asigura supraviețuirea operaților săi; el folosea pentru spălarea mîinilor, a instrumentelor și a cîmpurilor operatorii, numai *apă fiartă*, curăța riguros instrumentele, le *săpunea*, le trecea prin *alcool* și prin *flacără*, se spăla îndelung pe mîini înainte și în timpul operației, trecea cîmpurile și pansamentele prin *acid azotic diluat* . . . , iar în afara spitalului purta *mănuși* ca să nu-și murdărească mîinele (*A. Levy*, *Presse Méd.*, 1971, p. 664).

Bazele logice ale acestor practici care au dus la dispariția supurațiilor de spital au fost puse de *Pasteur* prin descoperirea cauzei lor microbiene; el a demonstrat că *supurațiile de spital sînt infecții.*

Plecînd de la concepția lui *Pasteur*, după care infecția plăgilor operatorii era cauzată de microbii din aer, *Joseph Lister*, profesor de chirurgie, interesat de problema *sepsiei postoperatorii*, a introdus în 1867 antisepsia în spitalul său; pentru a le feri de contaminare, *Lister* proteja plăgile cu pansamente îmbibate în *apă fenolată* și sanitiza aerul din saloane prin pulverizarea aceleiași soluții. Rezultatele obținute l-au îndreptățit să scrie lui *Pasteur*: „dacă veți veni vreodată la Edinburgh, veți găsi, cred, cea mai bogată răsplată văzînd în spitalul nostru ce binefaceri pentru umanitate aduce opera dumneavoastră" (v. pag. 28).

Înainte încă de apariția primei sale publicații asupra streptococului în febra puerperală (1879), în cadrul unei ședințe a Academiei de Medicină, *Pasteur* întrerupea pe un orator și obstetrician celebru (care plin de elocință relata teorii învechite pentru a explica epidemiile din maternități), cu cuvintele: „*ceea ce cauzează epidemia, nu-i nimic din toate acestea; medicul și personalul său sînt aceia care transportă microbul de la femeia bolnavă la una sănătoasă*". La riposta oratorului că un astfel de microb nu va fi descoperit niciodată, *Pasteur* a coborît șchiopătînd din amfiteatru și a desenat pe tablă streptococul care, și azi, este una din cele mai frecvente cauze a febrei puerperale (*Sàndor Fekete*, *Presse Méd.*, 1968, p. 1083).

Ansamblul de măsuri care au dus (și duc) la dispariția acestui flagel, „supurația de spital", are ca scop *prevenirea contaminării* plăgilor cu microbi de spital (v. cap. X) și se bazează pe utilizarea științifică și logică a metodelor de *sterilizare* prin agenți fizici (v. cap. VI), *dezinfecție* și *antisepsie* (v. cap. VII), a *metodei lucrului aseptic* și în primul rînd *curățenie.*

Aceste metode au fost elaborate și s-au dezvoltat odată cu microbiologia; transpunerea lor în clinică a dus la dispariția supurațiilor de spital și, ca urmare, la dezvoltarea chirurgiei moderne; ele au culminat cu adoptarea de către *Billroth*, 1891, a *asepsiei stricte în chirurgie*:

— folosirea întregului utilaj steril (cîmpuri de protecție, instrumentar, fir de sutură etc.);

— antiseptizarea cîmpului de operație (tegumentele bolnavului) și a mîinilor chirurgului;

— protecția plăgii chirurgicale în timpul actului operator prin costumul steril purtat de chirurg (inclusiv încălțăminte, capelină care acopere complet gîtul și părul — mare depozit de bacterii și fungi —, mască peste gură și *peste nas*, mănuși sterile), cîmpuri operatorii sterile, sterilizarea aerului din sala de operație etc.;

— protejarea ulterioară a plăgii prin pansament steril etc.

Metodica lucrului aseptic are ca scop protecţia de contaminare a oricărei zone normal sterile din organism, sau zonă antiseptizată, a oricărui obiect sterilizat, după principiul *non-touch* (= nu atinge); în cazul bolilor infecto-contagioase, aceasta înseamnă izolare.

În concluzie, *stăpînirea infecţiei de spital este direct proporţională cu gradul de exigenţă a obstetricianului, a chirurgului şi a fiecărui medic în aplicarea măsurilor de asepsie*[*]; de aceea, infecţia de spital este considerată azi *boală iatrogenă*, de a cărei apariţie este responsabil şi vinovat medicul (*iatros* = medic), sau *boală nosocomială*[**], din cauza condiţiilor din spital pe care şi le-a creat medicul.

Aplicînd măsuri de igienă de spital, medicii au determinat dispariţia supuraţiei de spital.

c) **Cauzele reapariţiei hospitalismului infecţios zis „modern".** În perioada în care metodele de sterilizare prin agenţi fizici, antisepticele, dezinfectantele şi metodologia lucrului aseptic duceau la rezolvarea *prevenirii infecţiei de spital*, pentru patologia infecţioasă rămăsese încă nerezolvată problema *tratamentului*. (Foarte puţine din bolile infecto-contagioase beneficiau pe atunci de un tratament imunologic specific cu ser antidifteric, antitetanic, anticărbunos).

Rezolvarea terapiei începe abia din 1937, odată cu descoperirea sulfamidelor, primele chimioterapice antibacteriene, 1942, odată cu intrarea în terapie a primului antibiotic, penicilina. Rezultatele aplicării penicilinei au fost spectaculoase în tratamentul infecţiilor cu streptococ piogen, gonococ etc., permiţînd vindecarea unor infecţii considerate anterior incurabile; meningite, septicemii, bronhopneumonii, osteomielite, sifilis etc. A urmat descoperirea de noi şi noi antibiotice şi chimioterapice şi de noi succese terapeutice.

În paralel cu aceste minunate rezultate pe linie terapeutică, aplicarea antibioticelor şi chimioterapicelor a avut însă şi o latură negativă, care a determinat un pas înapoi din punctul de vedere al rezultatelor obţinute în stăpînirea şi prevenirea infecţiilor de spital.

Trei au fost cauzele principale care au declanşat reapariţia acestora cu frecvenţă crescîndă în ultimile două decenii, greşeli care decurg din prea marea încredere a medicilor în antibiotice:

— prima greşeală a constat în introducerea antibioticelor şi în profilaxia infecţiei, înţelegîndu-se prin aceasta „*administrarea de antibiotice ori de cîte ori există teamă de infecţie, nu infecţie*";

— a doua greşeală a constat în *minimalizarea valorii diagnosticului etiologic al infecţiei şi al antibiogramei în conducerea terapiei*, ceea ce a degenerat în *tratarea oricărei febre cu antibiotice* (viroze, alergii, febre de rezorbţie etc!); aceste greşeli au facilitat trecerea antibioticelor în mîna profanilor şi eliberarea lor fără prescripţie medicală;

— a treia greşeală, total nepermisă, generată de *vulgarizarea noţiunii de antibioterapie*, a dus, în unele secţii de spital, la *minimalizarea regulilor stricte de asepsie* şi la scăderea exigenţei şi rigurozităţii în aplicarea lor (în ciuda faptului că eficienţa acestor metode a fost bine demonstrată prin dispariţia supuraţiilor de spital).

---

[*] Ansamblul de măsuri şi metode prin care un produs, un obiect, sau organism este protejat de contaminare.

[**] De spital (*nosos* = boală, *nosokomeion* = infirmerie, spital).

(i) *Consecințe grave înregistrate consecutiv greșelilor enunțate.* Utilizarea necontrolată a antibioticelor, prin presiunea de selecție astfel exercitată, a determinat:

modificarea sensibilității la A. a tulpinilor circulante în spitale (înlocuirea tulpinilor natural sensibile cu tulpini tot mai rezistente și multirezistente la antibiotice, în procente care uneori ating 100), și ca urmare *„declasarea acestor valoroși agenți terapeutici antibacterieni"* (în sensul restrîngerii, uneori pînă la anulare, a posibilităților lor de tratare a infecțiilor);

creșterea riscului la infecție prin „antibioterapie preventivă"; distrugerea speciilor sensibile de pe mucoase (mai ales prin A. cu spectru larg) modifică ecologia normală a acestora, selectînd tulpini multirezistente la A.; această alterare are drept consecință creșterea considerabilă a riscului la infecție, permițînd colonizarea *cu bacterii și fungi condiționat patogeni*, prezenți constant pe mucoase. Acest mecanism a dus la apariție *de noi aspecte clinice* (infecțiile postantibiotice sau patologia antibioticoterapiei) și la creșterea numărului de *infecții prin bacterii condiționat patogene multirezistente la antibiotice* (bacili gram-negativ și stafilococi); într-un studiu statistic pe cazuri clinice, *Philip* și *Spencer* stabilesc că terapia „de acoperire", preventivă, a crescut cu aproape 26 de ori riscul de infecție bronhopulmonară (!). Numărul articolelor de clinică în literatura medicală recentă, care confirmă că *antibioterapia nenecesară este periculoasă, nu numai inutilă*, este acum considerabil; este foarte promițător faptul că în reviste de chirurgie se vorbește tot mai des despre „excesul de încredere în A" . . ., de „ignorarea pericolelor reale ale antibioterapiei inutile"; sînt semne care permit previziunea că viitorul A. este asigurat;

reînvierea infecției de spital prin intercontaminare: „uitarea" regulilor stricte de asepsie pune bolnavul în condiții de mare risc de contaminare, echivalent erei prelisteriene; în unele unități spitalicești are loc reînvierea infecției prin intercontaminare bolnav-bolnav, bolnav-medic-bolnav. *Selectarea tulpinilor periculoase de spital,* care decurge din asocierea acestor greșeli, conferă uneori o gravitate deosebită infecțiilor de spital (v. cap. X).

(ii) *Noi factori favorizanți și noi infecții de spital*

Hospitalismul infecțios îmbracă noi aspecte legate cel mai adesea de introducerea de noi practici terapeutice și de investigare a bolnavului.

Utilizarea intensivă a seringii, a avut ca urmare (din primele decenii ale secolului) apariția hepatitei „prin seringă" insuficient sau nesterilizată, infecție care apare mai ales în secții medicale în care măsurile de asepsie sînt considerate necesare numai pentru chirurgi (!); hepatita B dispare odată cu intensificarea rigorilor privind sterilizarea: utilizarea exclusivă a seringii autoclavate, sau seringi de unică utilizare.

Un alt exemplu este apariția cu tot mai mare frecvență în ultimii ani a unor infecții foarte grave date de bacterii și fungi considerați anterior total nepatogeni *(Staphylococcus epidermidis)*, așa-numiții *accidental patogeni*, „introduși" în organisme foarte vulnerabile de „mîna" medicului; de noile instrumente medico-chirurgicale care au creat noi porți și căi de contaminare directă, a unor zone profunde normal sterile (cord, creier etc.): cateterisme vasculare, biopsii, noua chirurgie cardiacă și vasculară, bronhoscopii, cistoscopii, cateterisme ureterale etc.

Au apărut noi secţii medicale cu mare risc de infecţii : secţiile de terapie intensivă, hemodializă.

Au apărut în spitale instalaţii noi care cresc riscul contaminărilor dacă nu sînt bine asigurate din punct de vedere al sterilităţii : aer condiţionat, ventilatoare, umidificatoare. Astfel, recent este descris un nou patogen epidemigen, *Legionella pneumophila*.

În prezent, sînt internaţi un mult mai mare număr de indivizi cu rezistenţă antiinfecţioasă foarte scăzută, *marii vulnerabili* :

— bolnavi supuşi la tratamente imunodepresive intensive pentru afecţiuni oncologice, chirurgie de transplant, boli alergice grave;

— născuţi prematur şi nou-născuţi la termen cu SCIC* imatur;

— imunodeficienţi internaţi pentru tratamente de reconstituire a deficitului imunologic;

— bolnavi cu afecţiuni anergizante (a căror apărare antiinfecţioasă este scăzută temporar), rujeolă de exemplu;

— bolnavi cu arsuri de gradul II şi III etc.

d) **Măsuri de prevenire a hospitalismului infecţios „modern”.** Ieşirea din noua situaţie—reapariţia infecţiilor de spital—a fost căutată în descoperire de noi şi noi antibiotice şi chimioterapice, care să facă posibilă stăpînirea noilor rezistenţe bacteriene; după cum s-a văzut în cap. X, tulpinile bacteriene devin la rîndul lor tot mai multirezistente, ceea ce, ca principiu, este o cursă fără potou.

Se impune concluzia că rezolvarea problemei poate fi obţinută pe trei căi :

(i) *Corectarea consecinţelor antibioterapiei oarbe şi a profilaxiei cu A.* :

reglarea tratamentului cu antibiotice şi chimioterapice pe baze logice, diagnostic etiologic cît mai corect (epidemiologic, clinic, microbiologic, după caz) şi antibiogramă ori de cîte ori este necesar (bacterii cu rezistenţă şi multirezistenţă dobîndită) şi posibil (produs patologic accesibil pentru a fi recoltat);

renunţarea la profilaxie cu A. şi Ch. (aşa-zisa „terapie de acoperire”, determinată de „teama de infecţie”)** în chirurgia pe zone sterile, în pediatrie, în viroze, şi înlocuirea acestei metode prin măsuri de protecţie de contaminare şi ridicarea rezistenţei organismului prin toate mijloacele;

interzicerea eliberării A. şi Ch. din farmacii fără prescripţie medicală;

ciclarea categoriilor de A. de uz curent în spitale în raport de procentele de tulpini devenite rezistente, cu reţinerea unor preparate „de rezervă” pentru tratamente de urgenţă în infecţii grave***;

instituirea comitetului de spital pentru reglementarea politicii de folosire a A. şi Ch.

Astfel de măsuri, ştiinţific aplicate, au ca rezultat scăderea continuă a procentelor de tulpini cu rezistenţă dobîndită.

(ii) *Prevenirea contaminării în spitale.* Reintroducerea cu mare rigurozitate a *asepsiei stricte* de tip chirurgical, prin utilizarea tuturor mijloa-

---

* Sistem celular imunocompetent.

** A cărei efect sigur este scăderea rezistenţei naturale a bolnavului prin modificarea florei normale a mucoaselor şi expunere la infecţii greu de tratat prin selectare de tulpini multirezistente.

*** Fără a se uita că oricît de gravă este infecţia, există timp pentru recoltarea produsului patologic pentru examen microbiologic, anterior administrării A. de rezervă.

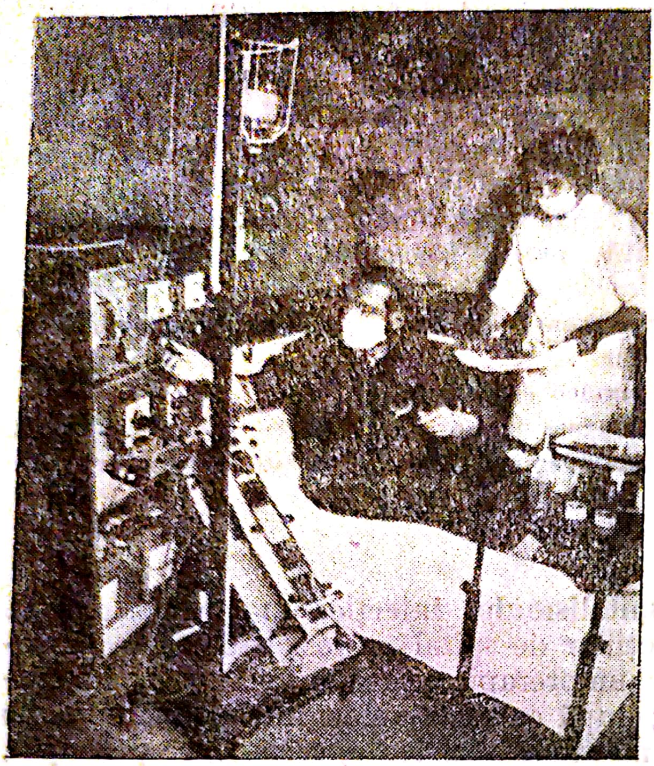


Fig. 55: Masca este purtată și de bolnav și de personalul medical, nu numai în sala de operație.

celor de sterilizare (v. cap. VI, dezinfecție, antisepsie (v. cap. VII), metoda lucrului aseptic după principiul inițiat de *Semmelweis* și *Lister* și promovat de *Billroth*, nu numai în chirurgie, ci în toate secțiile în care se practică explorări în zone sterile ale organismului (fig. 55);

asigurarea condițiilor clasice de izolare a infectaților, după principiile aplicate în spitale de boli infecto-contagioase;

izolarea preventivă a marilor vulnerabili; tehnicile clasice, oricît de riguroase, s-au demonstrat insuficiente; de aceea, tehnica modernă (adaptînd modelele utilizate în microbiologie pentru obținerea și protecția animalelor *germ-free*) a realizat noi metode pentru evitarea contaminării și prevenirea infecției; noi riscuri-noi metode:

— sala de operație sterilă (care previne total riscurile contaminării în timpul intervenției);

— scafandrul individual steril (transparent, cu aer condiționat steril sub ușoară presiune, a fost realizat pentru chirurg, pentru întreaga echipă care intră în sala de operație, avînd ca efect anularea posibilităților de contaminare medic-bolnav în timpul actului operator (fig. 34);

— izolatorul individual steril realizat pentru protecția marilor vulnerabili (fig. 35,) și bazat pe ideea nouă a *izolării preventive**.

(iii) *Stabilirea responsabilității* pentru apariția fiecărui caz de infecție de spital este o măsură foarte eficientă (dacă nu și foarte elegantă).

În condiții de bună funcționare și înaltă conștiință medicală, fiecare unitate sanitară trebuie să fie un exemplu, o școală și un centru de difuzare a metodologiei sanitaro-igienice în masa populației, și nu un loc unde apar infecții; fiecare medic trebuie să fie un profesor de metodologie sanitaro-igienică, *cea mai importantă sarcină a medicinei fiind prevenirea bolii*.

H. Smith scrie, cu menajamente, despre acest aspect: unul din factorii care contribuie la crearea riscului major de apariție a infecției este „*un personal medical care nu este familiarizat cu măsurile de prevenire*"; hospitalismul infecțios „modern" a devenit una din „problemele" actuale de sănătate care a început să redeștepte teama de spital. Cauzele lui sînt însă cunoscute și medicul conștient poate stăpîni „infecția de spital" și nu invers (fig. 56).

---

* La începutul erei microbiologice s-a impus ca o mare necesitate ideea izolării bolnavului infectat-contagios, pentru a proteja colectivitatea în care se află bolnavul; azi s-a ajuns pe un plan superior în care, fără a se renunța la izolarea contagiosului, se consideră la fel de necesară izolarea bolnavului vulnerabil la infecție, *izolarea preventivă*.

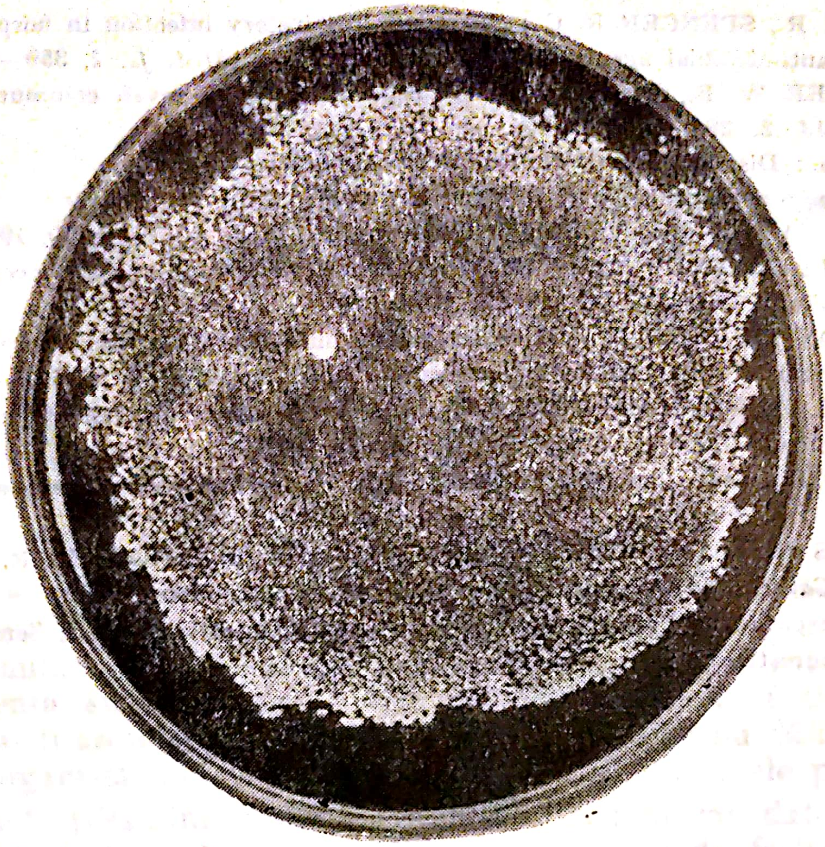


Fig. 56 : Amprentă de cultură de pe faţa internă a măştii unui chirurg purtător de *Staph. aureus* ;
după o operaţie de 100 min. (*Thompson* : „Microbiol and Epidemiol.", 1958).

BIBLIOGRAFIE

1. DARLOW H. M. : Safety în the microbial laboratory : An introduction. *Advances in Appl. Microbiol.*, *17*, 1—17, 1974.
2. EDELMANN G. : L'antibiothérapie en chirurgie digestive. *Cahs de Méd. 13*, 4, 285—290, 1972.
3. FEKETE S. : Semmelweis, Pasteur, Lister, Presse Méd. *76*, 22, 1083—1085, 1968.
4. FINLAND M. : Changing ecology of bacterial infections as related to antibiotical therapy. *J. Infect. Dis.*, *122*, 5, 419—431, 1970.
5. GRAEVENITZ A. V., PANTELICK E. : Should potential sources of hospital-acquired infections be monitored? *Infection*, *3*, 1, 1—5, 1975.
6. KRUIF P. : *Vînătorii de microbi*. Ed. Lepage, Cluj, 1938.
7. LEVY A. : Eugène Koeberlé, ce méconnu fondateur de l'asepsie et de l'hémostase. *Presse Méd.*, *79*, 14, p. 644, 1971.
8. MARIN M., PEROL R. : L'antibiothérapie préventive ou „de couverture"; ce qu'il faut en dire-ses risques. *La Rév. du Practicien*, XVIII, 32, 4 769—4 717, 1968.
9. MOMIER J., BOURSSE R. : Bilan et perspectives de l'antibiothérapie. *La Rev. du Practicien*, *XVIII*, 32, 1 775—1 782, 1968.
10. PARASCHIVESCU I., CEAPA A. : Aspecte privind controlul complex profilactic al infecţiilor intraspitaliceşti. *Bacteriol. Virusol. Parazitol. Epidemiol.*, Bucureşti, *XVII*, 5, 449—453, 1972.

11. PHILP J. R., SPENCER R. C.: Secundary respiratory infection in hospital patients: Effect of antimicrobial agents and environement. *Brit. Med. J.*, *2*, 359—362, 1974.

12. SCHECKLER W. E., BENETT J. V.: Antibiotic use in seven community hospitals. *JAMA*, *213*, 2, 264—267, 1970.

13. SFARTZ S.: Dismicrobismul, consecință a terapiei cu antibiotice. *Teză de doctorat*, Iași, 1976.

14. SMITH H.: A new look at infectious diseases. *Brit. Med. J.*, 107—110, 1973.

15. STOKES J., BRADLEY L., THOMSON R. E. M.: Hospital staphylococci in three teaching hospitals. *Lancet*, 7 741, p. 84, 1972.

16. TILLOTSON J. R., FINLAND M.: Bacterial colonization of the respiratory tract complicating antibiotic treatment of pneumonia. *J. Infect. Dis.*, *119*, 6, 597—624, 1969.

17. WAHBA H. H. W.: Les infections hospitalières: un danger permanent pour les malades et le personnel. *Chronique OMS*, *31*, 2, 69—72, 1977.

18. WICKMAN K.: Burns, bacteria and antibiotics. *Särtryck ur försvarsmedicin*, *6*, 201—220, 1970.

19. WILLIAMS R. E. O., BLOWERS R., GARROD L. P., SHOOTER R. A.: *Hospital infection. Causes and prevention.* Lloyd-Luke (Eds.), London, 1966.

20. * * *: Prevention and control of hospital associated infections. OMS, Seminar 3—7 mai 1976, București.

XII. PATOGENITATEA BACTERIILOR ȘI FACTORI DE PATOGENITATE

Patogenitatea este capacitatea microorganismelor de a determina boală. Gradul de patogenitate a unei bacterii este definit de dotarea cu factori de patogenitate. Manifestarea gradului de patogenitate este condiționată de rezistența antiinfecțioasă a organismului (cap. XIII și XIV); oricît de dotat ar fi un microb cu factori de patogenitate el nu dă infecție-intoxicație în organism imunizat. Ca urmare, microorganismele pot da:

— infecții și/sau intoxicații în organismul neimunizat, datorită **factorilor de alterare primară**, reprezentați de *factori de virulență* și *toxine*, și, uneori,

— fenomene de sensibilizare alergică, în organism imunizat — inițiate de antigene-haptene microbiene și mediate de anticorpi umorali și/sau celulari —, numiți și **factori de alterare secundară**.

Există bacterii virulente, bacterii toxigene, bacterii virulente și toxigene, iar unele sînt și sensibilizante. Pentru multe bacterii acești factori nu sînt încă bine cunoscuți și catalogați.

A. VIRULENȚĂ ȘI FACTORI DE VIRULENȚĂ

Virulența este proprietatea bacteriilor de a coloniza la poarta de intrare (de a se adapta și înmulți), de a invada și altera țesuturi și umori[*]. Factorii care asigură virulența și gradul de virulență diferă mult de la specie la specie.

---

[*] Bacterii lipsite de factori speciali de virulență pot depăși învelișurile prin mecanisme pasive și sînt repede eliminate prin fagocitoză și factori bactericizi umorali. Ajunse în mod *accidental* pînă în sedii de minoră rezistență din organism (lichid cefalorahidian, valvule cardiace cu vegetații, plăgi chirurgicale pe vase mari, cord, ligaturi, leziuni endovasculare), la adăpost de fagocite, reușesc uneori să se înmulțească — să colonizeze — dînd infecții latente, ca endocardite subacute, meningite cu evoluție subacută (astfel de bacterii, și micete, sînt numite accidental patogene).

1. FACTORI DE COLONIZARE ŞI PĂTRUNDERE

Consecutiv contaminării, unele bacterii reuşesc să colonizeze datorită dotării cu factori speciali:

— dotare enzimatică pentru condiţiile de creştere oferite de anumite mucoase (ţesuturi, organe);

— pili de aderenţă pentru epitelii (în baza unor specificităţi de structură a pililor şi a celulei receptor, *N. gonorrhoeae* aderă în mod special la epiteliul uretral şi cervix, *S. pyogenes* aderă la epiteliul faringian, *E. coli* enteropatogen aderă la mucoasa jejun-ileonului; la fel se explică aderenţa specială a *V. cholerae*, *C. diphteriae*);

— unele bacterii sînt dotate şi cu pili şi cu enzime de alterare, prin care dau leziuni locale, creîndu-şi porţi de intrare şi colonizare în mucoasă *(C. diphteriae)*;

— bacterii foarte mobile şi foarte subţiri (spirochete), sau foarte mici *(Francisella tularensis)* par să pătrundă prin mucoase şi chiar tegumente intacte, prin spaţiile intercelulare;

— gonococul ar ajunge în submucoasă, pătrunzînd în celule mucoase printr-un fenomen de endocitoză, favorizat de o proteină de suprafaţă;

— chlamydiile, *bacterii obligatorii intracelulare*, se fixează pe receptori de perete şi colonizează în citoplasma unor celule epiteliale.

2. FACTORI DE INVAZIE

Invadarea organismului este condiţionată de factori bacterieni antifagocitari şi de enzime de favorizare a difuzării (tabel 21).

a) **Factori antifagocitari de inhibare a înglobării**. *Capsula* reprezintă pentru bacteriile capsulate unicul sau unul din factorii de virulenţă; indiferent de compoziţie — polizaharidică, poliglutamică, acid hialuronic — şi fără a avea vreo acţiune de alterare a fagocitelor, consistenţa ei vîscoasă face ca bacteriile să scape înglobării în fagocite; astfel de bacterii se înmulţesc liber şi invadează uşor un organ sau întreg organismul; se numesc *bacterii cu înmulţire extracelulară*: capsula polizaharidică a pneumococului „S" *(smooth)* asigură întreaga virulenţă a speciei (tulpinile „R", care au pierdut capacitatea de a sintetiza capsula, sînt uşor înglobate şi omorîte de fagocite, sînt nevirulente).

Compuşi de perete, făcînd parte din structurile speciale ale straturilor superficiale (v. cap. II), prezintă proprietăţi antifagocitare, bine demonstrate pentru *proteina „M"* a streptococilor β-hemolitici grup A, *antigenul Vi* prezent la *S. typhi*, *antigenul K* prezent la *Escherichia* etc. Unii cercetători identifică aceşti factori, *proteină M*, *antigen K*, antigen Vi, cu pili de virulenţă care asigură atît aderenţa specifică, cît şi rezistenţa la fagocitoză.

Rolul antifagocitar al acestor factori este demonstrat experimental şi prin anularea virulenţei consecutiv tratării bacteriei cu serul imun specific factorului respectiv: ser anticapsular, antiproteină M, anti—Vi, anti-pili la gonococ.

Coagulaza elaborată de *Staph. aureus* împiedică fagocitoza atît *in vitro* cît şi *in vivo* prin faptul că transformă plasminogenul în plasmină activă determinînd coagularea fibrinogenului; consecutiv, pe suprafaţa stafilococilor coagulazo-pozitivi se formează un strat de fibrină „o capsulă" care îi protejează împotriva fagocitozei.

b) **Factori antifagocitari de inhibare a digestiei în fagocite.** Unele bacterii, numite *bacterii facultativ intracelulare*, deși sînt înglobate de fagocite, rezistă digestiei enzimelor lizozomale :

— gonococii virulenți sînt înglobați de PN dar nu sînt digerați, ei se înmulțesc și burează citoplasma polimorfonuclearelor (PN ,,burate'') ;

— numeroși bacili și cocobacili gram-negativ *(Salmonella, Brucella, Yersinia, Francisella, Haemophilus)* posesori de ,,endotoxină'' (lipopolizaharid) rezistă înglobării în PN, dar sînt înglobați de macrofage ; macrofagele din organismul neimunizat nu le pot digera, bacteriile înmulțindu-se activ în interiorul acestora ;

— în aceeași categorie intră *Myc. tuberculosis* producător de *cord-factor*, un complex de lipide care se acumulează în jurul bacililor menținîndu-le în cordoane, cu funcție antifagocitară ; cord-factorul le asigură rezistența la înglobare în PN și rezistența la digestie în macrofagul din organismul neimunizat : pierderea capacității de a forma ,,cordoane'' echivalează cu pierderea virulenței ; cazul tulpinii vaccinante BCG.

Alte specii facultativ intracelulare sînt *Listeria monocytogenes, Erysipelothrix insidiosa*.

Toate aceste bacterii posedă *lipide* de perete.

Neputîndu-le distruge, macrofagele reprezintă pentru majoritatea acestor specii BFI, un important *factor de mobilizare și difuzare în organism*.

c) ,,**Agresine**'', **enzime care favorizează difuzarea în țesuturi.** Unele bacterii invadează datorită anumitor exoenzime de permeabilizare a țesuturilor, care digeră substanțe de cimentare intercelulare, bacteriile asigurîndu-și difuzarea din aproape în aproape :

Hialuronidaze, enzime eliberate de streptococi β-hemolitici grupa A, stafilococi, *Cl. perfringens*, hidrolizează acidul hialuronic din substanța ciment a țesutului conjunctiv permeabilizînd bariere epiteliale, mucoase, tisulare și favorizînd invadarea organismului.

Colagenaza, enzimă puternic proteolitică elaborată de *Cl. perfringens*, dezintegrează țesutul muscular prin hidroliza colagenului, constituent al țesutului conjunctiv.

Fibrinolizinele sînt enzime activatoare, chinaze, care induc digestia fibrinogenului și inhibă formarea barierelor de fibrină pe care organismul le formează în jurul focarelor infecțioase pentru delimitarea și localizarea lor. Prin astfel de procese, unii stafilococi și streptococi realizează progresia și invadarea țesuturilor (sînt folosite în scopuri terapeutice).

d) **Agresine citolitice.** Multe bacterii virulente eliberează proteine-enzime care alterează celule tisulare sau sanguine, acționînd asupra membranelor celulare, numite ,,*lizine*'', sau asupra unor componente prin care pot antrena chiar moartea celulelor, numite ,,*cidine*'' :

Enzime leucolitice sau ,,leucolizine'' eliberate de bacterie în mediul extracelular, sau ,,leucocidine'' eliberate în leucocitul care le-a fagocitat. Bacteriile producătoare de leucolizine și leucocidine (stafilococii, streptococii) sînt denumite ,,piogene'', deoarece leucocitele omorîte se acumulează în focarul inflamator, contribuind la formarea puroiului.

Lecitinaza, numită și ,,toxina alfa'', este o enzimă produsă de *Clostridium perfringens* și de unele tulpini de *Staph. aureus*, care scindează lecitina (lipid ce constituie o importantă substanță de cimentare atît a membranelor celulare, cît și a mitocondriilor) și produce liza rapidă a globulelor roșii, leucocitelor și multor celule tisulare.

Hemolizine diferite sînt produse de multe bacterii: *Clostridium tetani, C. perfringens, C. septicum*, stafilococi, streptococi, pneumococi. Majoritatea distrug sau alterează hematii (dar și alte celule, globulele albe, unele celule tisulare, plachete). Sînt litice pentru hematii în doze de 0,001 mg/ml.

Alte enzime bacteriene cu acțiuni mai puțin precizate în patogenie sînt *dezoxiribonucleazele, proteaze, lipaze* diferite, *ureaza, fosfataza acidă, enzimele zaharolitice*; ele potențează virulența bacteriilor.

Agresinele bacteriene și factorii de adezivitate demonstrează o mare specificitate care ține de corespondența *enzimă bacteriană — substrat nutritiv, pili—receptori celulari*; în baza lor diferențiem:

— *specificitate de virulență pentru anumite specii animale sau pentru om*:

b. virulente numai pentru om (*T. pallidum, N. gonorrhoeae, N. meningitidis, V. cholerae, S. typhi, M. leprae* etc.);

b. virulente pentru anumite specii animale (*Corynebacterium renale* patogen pentru bovine, ovine, caprine);

b. virulente pentru toate animalele cu sînge cald inclusiv om (*Bacillus anthracis*);

— *afinitatea sau tropismul bacteriilor* pentru anumite epitelii, țesuturi, organe:

bacterii foarte bine dotate enzimatic ce se pot dezvolta în orice țesut și chiar în sînge, *Bacillus anthracis*;

speciile *Brucella* se înmulțesc îndeosebi în placenta bovinelor, ovinelor, caprinelor (dar nu și în placenta umană) datorită concentrațiilor mari de eritrol, care le stimulează creșterea;

Mycobacterium marinum, patogen al animalelor cu sînge rece, determină la om doar infecții cutanate (datorită temperaturii mai scăzute de la acest nivel);

Rickettsia prowazekii pătrunde și se înmulțește numai în celule endoteliale care căptușesc vasele mici;

Bordetella pertussis aderă și se înmulțește exclusiv în mucoasa bronșică.

Consecințele patologice sînt diferite în raport cu țesutul, organul, umorile care oferă condiții de proliferare:

înmulțirea pneumococilor cu obliterarea spațiilor alveolare determină *hipoxia* prin blocarea schimburilor gazoase;

înmulțirea brucelelor în placentă duce la *avortul spontan* și moartea fătului.

Unii cercetători încadrează agresinele-enzime ca toxine, denumindu-le „toxine litice" sau „citotoxine"; realele toxine nu au acțiune enzimatică.

Majoritatea agresinelor (ca și veritabilele exotoxine) determină în organism apariția de *anticorpi* cu valoare *neutralizantă specifică*.

Definirea unei agresine. Un produs bacterian, presupus a fi o „agresină", poate fi definit experimental: bacteria vie este inoculată la animale de experiență sensibile, într-o doză care nu produce efect letal; jumătate din numărul animalelor astfel inoculate vor primi simultan și o doză din produsul bacterian de testat presupus a fi o „agresină". Dacă acest produs mărește puterea de invazie și nocivitatea microbilor vii inoculați, tradusă prin creșterea procentului de letalitate, produsul este considerat o *agresină* (tabel 21).

Tabelul 21

Factori bacterieni de virulență

Factori corpusculari	structuri capsulare	capsule polizaharidice (*S. pneumoniae, N. meningitidis, Klebsiella*)	
		,, polizaharid-proteice	
		,, de acid poliglutamic	
		,, de acid hialuronic (*S. pyogenes* A și C)	
		„cord-factor" (complex lipidic)	
	structuri de perete	factori antifagocitari : proteină „M" la *S. pyogenes* A	
		complexe lipopolizaharidice	„endotoxinele" (?) antigen „Vi" antigene tip „K";
	pili :	factori de aderență sau/și antifagocitari	
	mobilitate	*Leptospira,* *Treponema pallidum*	
Factori secretați „agresine"	enzime litice	de permeabilizare a țesutului conectiv	hialuronidaze, colagenază, fibrinolizină, neuraminidază;
		citolizine „citotoxine"	hemolizine, leucocidine, lecitinază;
		histolitice (necrozante și dislocante)	proteaze, lipaze, urează, fosfatază acidă, dezoxiribunocleează etc., zaharolitice;
	agresină antifagocitară: coagulaza.		

B. TOXINE BACTERIENE

Toxinele bacteriene sînt otrăvuri puternice care, deși proteine, spre deosebire de agresine, nu li se cunoaște nici o activitate de tip enzimatic. Sînt capabile să omoare în doze infinitezimale organismul neimunizat prin paralizarea, tulburarea unor funcții de importanță vitală. Mecanismele prin care aceste proteine determină paralizia funcțiilor celulare nu sînt bine precizate.

Sînt foarte bune antigene, determinînd apariția de anticorpi cu capacitate neutralizantă specifică. Pot fi transformate ușor în foarte bune vaccinuri, produși atoxici dar vaccinanți, numite *anatoxine*. Pentru bacteriile a căror patogenitate este asigurată numai de o astfel de toxină, anatoxina asigură o perfectă imunizare (difterie, tetanos, botulism).

Se cunosc toxine eliberate de bacterie în mediul de cultivare — artificial sau organism — numite *exotoxine* și *toxine legate de corpul bacterian* care nu pot fi eliberate decît prin moartea și liza bacteriei. Cantitatea de toxină produsă variază foarte mult de la tulpină la tulpină.

Exotoxine

a) Cele mai puternice toxine cunoscute, numite și „toxine adevărate”, sînt exotoxinele produse de bacili gram-pozitiv, *Corynebacterium diphteriae*, *Clostridium tetani* și *Clostridium botulinum*: 1 mg de toxină tetanică sau botulinică omoară mai mult de 1 000 tone de cobai, omul fiind și mai sensibil. *Întreaga patogenitate a acestor bacterii este dată de exotoxinele* care difuzează în organism, fixîndu-se pe receptori celulari specifici țesuturilor sensibile: *neurotoxina tetanică* se fixează pe celula motorie din măduva spinării, întrerupînd mecanismle de transmitere a stimulului nervos la mușchi (blocînd inhibarea sinapsei); *toxina difterică* difuzează și se fixează pe miocard, țesutul nervos, determinînd alterarea funcției acestora, probabil prin inhibarea sintezei proteinelor (a transferului aminoacizilor de la ARN-s în peptidul care se formează pe ARN-r).

Clostridium botulinum nici nu poate fi considerat un agent infectant: în marea majoritate a cazurilor, boala este dată de absorbția la nivelul mucoasei intestinale a toxinei eliberate în alimentul în care s-a înmulțit bacteria, în afara organismului.

Pentru toate aceste 3 bacterii, filtratele de cultură (lipsite de corpi microbieni) inoculate la animale sensibile dau aceleași simptome de boală ca și bacteriile vii.

b) Exotoxine cu toxicitate mai redusă produc și alte bacterii gram-pozitiv (care posedă însă și factori de virulență sau/și de sensibilizare, patogenia bolilor date de astfel de bacterii fiind mult mai complexă):

— bacteridia cărbunoasă, capsulată și virulentă, elaborează o exotoxină, letală și vaccinantă, formată din trei fracțiuni;

— streptococii beta-hemolitici grup A (bacterii virulente prin proteina M, capsula de acid hialuronic și numeroase exoenzime-agresine, totodată sensibilizante) produc și o toxină, așa-numita eritrotoxină sau toxină scarlatinoasă, imunizantă;

— unii stafilococi eliberează o enterotoxină dînd toxiinfecții alimentare.

Toxine legate de corpul bacterian

Toxinele proteice puse în evidență la *bacili gram-negativ* diferă prin aceea că sînt celulare, eliberate numai după moartea și liza bacteriei. Cea

Tabelul 22

Toxine bacteriene

Bacteria producătoare	exotoxină	toxină legată de corpul bact.	natură chimică	activitate
Cl. botulinum	+	—	proteină	neurotoxică
Cl. tetani	+	—	,,	,,
C. diphteriae	+	—	,,	,, și alte
S. pyogenes	+	—	,,	eritrogenă
S. aureus	+	—	,,	enterotoxică
B. anthracis	+	—	,,	edematogenă-letală
Sh. dysenteriae (Shiga)	+ (?) sau	+ (?)	,,	neurotoxică
V. cholerae	+ sau	+	,,	paralizia mecanismelor de reglare electrolitică, Na-K
B. pertussis	+ (?) sau/și	+ (?)	,,	necrozantă
Y. pestis	+ (?) sau	+ (?)	,,(?)	necrozantă

mai puternică din acestea este neurotoxina bacilului dizenteric *Shiga*: alte astfel de toxine au fost demonstrate la bacilul pestei, vibrion holeric (tabel 22).

C. FACTORI DE SENSIBILIZARE

Factorii de alterare secundară sau de sensibilizare sînt substanțe microbiene, corpusculare sau excretate (enzime, toxine), puternic antigenice care pot complica boala infecțioasă după apariția anticorpilor prin cuplare cu aceștia.

Nu toate reacțiile antigen-anticorp (Ag-Ac) care au loc în organism sînt favorabile acestuia. Uneori, alterări grave pot fi produse de prezența concomitentă a *antigenului* (microb, produs microbian, autoantigene apărute prin alterări microbiene, antigene tisulare similare antigenelor bacteriene) și a *anticorpilor* corespunzători.

Mecanismele de producere a fenomenelor de sensibilizare și a modului cum intervine microorganismul în producerea lor vor fi înțelese mai bine după parcurgerea noțiunilor de imunologie și sensibilizare (Partea a III-a a manualului).

În principiu, orice microorganism care a produs o infecție dacă nu a fost repede eliminat din organism poate — cu condiția întrunirii anumitor proporții și cantități antigen-anticorp — să determine fenomene de sensibilizare umorală (prin imunoglobuline) sau/și celulară (prin intermediul celulelor cu funcție Ac).

Bacteriile care determină frecvente complicații prin fenomene de sensibilizare sînt prezentate în tabelul 23. Unii factori de sensibilizare au putut fi identificați, alții încă nu.

Tabelul 23

Factori bacterieni de sensibilizare

Bacteria producătoare	natura chimică	denumirea
M. tuberculosis	proteină	tuberculină
Ps. mallei	,,	maleină (morvină)
Brucella	,,	brucelină
Tr. pallidum	,,	luetină
Fr. tularensis	,,	tularină
H. ducreyi	?	antigen *Frei*
Str. pyogenes serogrup A	m.c.p. ?	factorul ,,reumatogen"
Str. pyogenes serogrup A	?	factorul ,,nefritogen"
Bacterii gram-negativ	lipopolizaharide (LPS) sau lipide	,,endotoxine"

VARIAȚIA GENETICĂ A GRADULUI DE PATOGENITATE

După cum a reieșit, patogenitatea unei bacterii poate fi dată de un unic factor (bacilul tetanic, *toxigen*, pneumococul, *bacterie virulentă*), ori de mai mulți factori de virulență sau/și toxine (stafilococ, streptococ, *Cl. perfringens* etc.).

Fiecare din factorii de patogenitate este genetic determinat și supus variației și selecției; mari posibilități de variație sînt demonstrate pentru factorii codificați de plasmide, factorul selectant fiind mecanismele de apărare ale organismului infectat (v. cap. X). Ca urmare, o bacterie poate pierde sau cîștiga unul sau mai mulți factori de patogenitate:

a) pentru bacteriile dotate cu unic factor de patogenitate, pierderea lui este egală cu piederea întregii patogenități: bacilul difteric pierde odată cu fagul temperat și toxigenitatea (patogenitatea); variația S-R la pneumococ echivalează cu pierderea capacității de a sintetiza capsulă și a patogenității;

b) pentru bacterii dotate cu mulți factori de patogenitate, pierderea unuia sau unora determină numai variații ale gradului de patogenitate: patogenitatea stafilococilor *aureus* (determinată de numeroși factori de virulență enzimatici și celulari, toxină) variază foarte mult de la tulpină la tulpină, în raport de *numărul* și *calitatea* factorilor pe care îi posedă; de la nepatogeni pînă la stafilococi cu patogenitate mare, periculoși (tabel 24).

Tabelul 24

Factori (f) de patogenitate, supuși fenomenelor de variație, la speciile *Staphylococcus aureus* și *Clostridium tetani*

Staph. aureus *
- f. celulari: capsula (f. antifagocitar)
- f. secretați
  - exoenzime-agresine
    - coagulaza (f. antifagocitar);
    - citolizine
      - hemolizina-α
        - hemolitică
        - leucolitică
        - dermonecrotică
        - letală
      - ,, -β
      - ,, -γ
      - ,, -δ
      - leucocidină, (lecitinază ?);
    - f. litici ai structurilor necelulare
      - hialuronidază
      - fibrinolizină;
  - exotoxine: enterotoxina A, B, C, D, E, F;
- f. de catabolism, toxici:
  - acid lactic,
  - acetoin,
  - acizi grași.

Cl. tetani **
- f. secretați: exotoxină tetanică.

* Se întîlnesc tulpini defective, de unul sau mai mulți factori de patogenitate.

** Se întîlnesc variații cantitative (tulpini care secretă variate cantități de toxină) și variații calitative (tulpini netoxigene).

BIBLIOGRAFIE

1. BERNHEIMER A. W. : Cytolytic toxins of bacterial origin. *Science*, *159*, 3 817, 847—851, 1968.
2. GUERRAND R. L., MOORE R. A., KIRSCHENFELD P. M., SANDEL M. A. : Role of toxigenic and invasive bacteria in acute diarrhoea of childhood. *N. Engl. J. Med.*, *293*, 12, p. 567, 1975.
3. KAMURA M. N., CROSS W. R. : The lecithinase (a toxin) activity of strains of *Clostridium perfringens*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 3, p. 719, 1969.
4. KOLATA G. B. : Intracellular bacterial toxins : origins and effects. *Science*, *190*, 4 218, 969—970, 1975.
5. LUDERITZ O., JANN K., WHEAT R. : Somatic and capsular antigens of gram-negative bacteria. *Comprehensive Biochemistry*, 26A, Florkin and Stotz (Eds.), 1968.
6. SMITH H. : Biochemical challenge of microbial pathogenicity. *Bact. Rev.*, 32, 164—184, 1968.
7. SMITH H. : Toxic activities of microbes. *Br. Med. Bull.*, *25*, 3, 288—292, 1969.
8. SMITH H. : The little-known determinants of microbial pathogenicity. *Symp. Soc. Gen. Microbiol.*, *22*, 1—24, 1972.
9. SMITH H., PEARCE J. H. : Microbial pathogenicity in man and animals. *Symp. Soc. Gen. Microbiol.*, 22, 1972.
10. STONER H. B. : Specific and non-specific effects of bacterial infection on the host. *Symp. Soc. Gen. Microbiol.*, *22*, 113—128, 1972.

XIII. APĂRAREA ANTIINFECȚIOASĂ

Apărarea sau rezistența antiinfecțioasă a unui individ este o stare complexă care decurge din caracteristici acumulate de-a lungul existenței speciei, *factori constituționali*, și a existenței individului, *factori dobîndiți*, care îi asigură existența în condițiile unei agresiuni microbiene continue; acești factori de rezistență sînt influențați de starea fiziologică a organismului și de unii factori de mediu.

Factorii constituționali, cu care individul se naște, pot fi diferențiați în:

factori specifici speciei animale, de care dispun toți indivizii unei specii animale sau speciei om, și

factori nespecifici, de care dispun toți indivizii tuturor speciilor animale inclusiv omul.

Acești factori determină rezistența înăscută.

Factorii dobîndiți în timpul vieții de fiecare individ, sînt specifici speciilor microbiene și reprezentați de anticorpi; *de anticorpi beneficiază numai unii indivizi, aceia care au suferit un proces specific de imunizare activă (prin infecție ori vaccinare), sau pasivă* (prin anticorpi formați de alt organism).

A. REZISTENȚA ANTIINFECȚIOASĂ ÎNNĂSCUTĂ, SPECIFICĂ SPECIEI ANIMALE

Rezistența înnăscută este capacitatea comună tuturor indivizilor unei specii de a rezista anumitor microorganisme care sînt patogene pentru altele.

(Rezistența înnăscută este adesea impropriu numită ,,imunitate înnăscută''; termenul imunitate este în general — și în acest manual — rezervat fenomenelor mediate de factori specifici dobîndiți, anticorpi umorali și celulari; v. subcapitolul C.).

Exemple. Specia om este natural rezistentă la numeroase boli animale ca *jigodia cîinelui* dată de virusul lui Carré,, *hepatita contagioasă a cîinelui*, *adenoviroza găinilor* etc. . . etc.; *specia cîine* rezistă la microbi patogeni pentru om, bacil difteric, meningococ, gonococ etc.; șobolanul este rezistent la difterie, poliomielită etc.; toate speciile animale sînt natural rezistente la unele infecții specifice omului, sifilis, gonococie, infecții meningococice etc.

Rezistența înnăscută poate fi prezentă numai la unele rase în cadrul aceleiași specii: este cunoscut exemplul oii algeriene mult mai rezistentă la bacteridia cărbunoasă decît oaia europeană.

Mecanisme. Această rezistenţă este concepută ca o *lipsă de receptivitate* impusă de structurile chimice tisulare şi umorale, şi de funcţiile metabolice instituite şi selectate filogenetic, caracteristice fiecărei specii; ca urmare, are un înalt grad de specificitate de specie animală *(fiecare specie animală este rezistentă la anumite specii microbiene patogene pentru alte specii)*.

Lipsa de receptivitate faţă de bacterii se poate explica prin lipsa receptorilor specifici de suprafaţă ai celulelor epiteliale pentru pilii de aderenţă ai bacteriei respective, prin lipsa unor factori de creştere, a condiţiilor de cultivare convenabile.

Specia animală care nu oferă condiţii optime de înmulţire unui anumit microb este *ireceptivă* sau *natural rezistentă* la acel microb:

Treponema pallidum moare rapid atît la temp. de 40–41°C, valori care reprezintă temp. normală a organismului la numeroase animale cu sînge cald, cît şi la temp. normală a animalelor cu sînge rece; se poate explica astfel lipsa lor de receptivitate pentru această bacterie.

Rezistenţa sau ireceptivitatea pentru anumite virusuri decurge din (i) lipsa de receptori specifici pe suprafaţa celulelor, sau prin (ii) lipsa de compatibilitate între genomul viral şi capacităţile de sinteză ale celulei contaminate.

Rezistenţa de specie s-ar datora şi altor factori:

— fagocite cu activitate fagocitară deosebit de eficientă asupra anumitor bacterii;

— bine studiată este rezistenţa naturală a iepurelui, cîinelui şi maimuţei la pestă: s-a demonstrat că toxina bacilului pestei inhibă respiraţia mitocondriilor izolate provenite de la animalele sensibile (şobolani, şoareci), dar nu şi a celor provenite de la animale rezistente la pestă, care nu sînt afectate nici chiar de doze enorme de toxină.

Rezistenţa naturală a unei specii animale se modifică filogenetic, prin modificări celulare cu caracter mutaţional şi sub presiunea de selecţie realizată de însăşi boala infecţioasă gravă cu mortalitate mare, epidemii în timpul cărora mor indivizii cei mai sensibili şi supravieţuiesc cei mai dotaţi cu factori de rezistenţă; în cursul filogeniei speciilor, ar apărea linii tot mai puţin receptive care ar deveni treptat populaţii dominante. (Astfel s-ar explica receptivitatea redusă la lepră, boală pentru care omul era mult mai sensibil în antichitatea îndepărtată.)

În concluzie, mecanismele determinante ale rezistenţei înnăscute de specie, încă insuficient studiate, sînt însă cele mai eficiente din cele 3 categorii de care beneficiază un organism; ele conferă tuturor indivizilor unei specii o rezistenţă practic absolută pentru o foarte largă gamă de microbi patogeni şi foarte patogeni pentru alte specii.

B. REZISTENŢA ANTIINFECŢIOASĂ PRIN FACTORI NESPECIFICI

Numim nespecifici factorii de apărare activi împotriva oricărei agresiuni microbiene, indiferent de specie, şi care aparţin tuturor indivizilor oricărei specii.*

---

* Rezistenţa antiinfecţioasă prin factori nespecifici este uneori denumită „imunitate nespecifică" termen impropriu deoarece toate fenomenele imunologice se caracterizează prin marea lor specificitate, de recunoaştere şi cuplare între antigen-anticorp (Partea a III-a a cărţii).

Factorii acestei apărări îşi datorează denumirea de „nespecifici" prin aceea că, spre deosebire de anticorpi, (a) *nu au specificitate de microb* (fiind activi practic împotriva oricărui microb cu care un organism vine în contact, indiferent de specia agresoare) şi prin aceea că (b) *sînt lipsiţi şi de specificitatea de specie animală* (fiind prezenţi în majoritate la toate speciile).

Există factori activi la nivelul suprafeţelor, tegumente şi mucoase, *factori externi*, şi activi la nivelul ţesuturilor şi umorilor, *factori interni* (tabel 25); datorită eficienţei factorilor nespecifici, în primul rînd, este asigurată *sterilitatea mediului intern al organismului şi a unor zone ale cavităţilor natural deschise în condiţiile unui mediu în care densitatea microbilor este enormă şi contaminarea suprafeţelor are loc continuu* (v. tabelele 11—15).

Tabelul 25

Factori şi mecanisme nespecifice ale apărării antiinfecţioase

Factori externi (mucoase, tegumente)	mecanici	integritatea anatomică a pielii, „ „ a mucoaselor;	
		capcane anatomice	traiect respirator sinuos, mucus aderent;
		spălare mecanică a mucoaselor (curent interior-exterior)	epitelii ciliate, lacrimi, salivă, bilă, urină (micţiune), peristaltism intestinal;
		descuamarea tegumentelor etc.	
	chimici	înveliş cutanat acid (pH 3—5), lizozim (lacrimi, mucus nazal, salivă), aciditate gastrică (pH 1—2);	
	celulari	aciditate vaginală, fagocitoză la nivelul mucoaselor, fagocitoză la nivelul epiteliului respirator;	
	antagonismul bacterian.		
Factori interni (ţesuturi, umori)	mecanici	ţesut dens celular, substanţe-ciment intercelulare, presiunea sangvină;	
	umorali	lizozim, polipeptide bazice, peptone, histone etc.	
	celulari	fagocitoza, inflamaţia.	

1. FACTORI NESPECIFICI EXTERNI

Învelişul cutaneo-mucos intact anatomic şi funcţia normală a celulelor care îl alcătuiesc reprezintă bariera care împiedică pătrunderea microbilor de contaminare în ţesuturi şi umori; pot fi diferenţiate:

a) **Bariere mecanice.** *Integritatea anatomică a învelişului cutaneo-mucos* este prima şi cea mai importantă barieră care se opune agresiunii microbiene. Epiteliile stratificate pavimentoase și cilindrice alcătuite din straturi de celule compact alăturate, fără spații intercelulare, asigură un înveliș continuu, fără soluții de continuitate, impermeabil pentru majoritatea microorganismelor, reprezentînd frontiera între mediul intern steril și mediul extern populat de microbi.

Orice întrerupere a acestei integrități (plăgi traumatice, tăiate, înțepate, arsuri) permite accesul m. pînă la țesuturi și umori; de exemplu, (i) este bine cunoscut că în arsuri procentul cel mai mare de mortalitate se datorește infecțiilor prin dispariția acestei bariere; (ii) leziuni minime, escoriații care interesează doar epidermul înseamnă și rupturi ale rețelei vasculare subepidermice, secționări ale canaliculelor care îl străbat (sudoripare, sebacee, folicul pilos) cu formare de pungi închise cu serozitate în care se pot supraînmulți în primul rînd bacteriile care populează profund aceste anexe; (iii) dezepitelizarea mucoasei TRS produsă de unele virusuri favorizează pătrunderea bacteriilor și levurilor în țesuturi și progresia spre alveole.

Capcane. Mucoasele, care sînt bariere mai fragile, beneficiază și de diferite „capcane" care se opun progresiei microbilor spre regiunile profunde ale cavităților naturale; deosebit de eficient este *mucusul*, pătura de secreție vîscoasă, aderentă, care protejează toate mucoasele normale de care microbii aderă.

În cazul TR această funcție este potențată de *traiectul sinuos* nazo-faringo-laringo-traheo-bronșic pe care trebuie să-l urmeze aerul inspirat (v. cap. V, B, 3 și 7).

Spălarea și îndepărtarea microbilor de pe suprafețe are loc prin variate mecanisme:

— *Descuamarea continuă a stratului extern cornos al epidermului* împiedică suprapopularea cu bacterii și accesul acestora și a toxinelor lor spre celulele vii ale straturilor profunde; *fluxul interior-exterior* al secrețiilor glandelor-anexă (sebacee, sudoripare) realizează de asemenea o continuă eliminare a bacteriilor care le colonizează. *(Aceste mecanisme naturale sînt mai mult decît eficient favorizate de metodele de igienă, săpunit, spălat, periaj, mai ales la nivelul pliurilor cutanate,* extrem de favorabile supraînmulțirii bacteriilor și fungilor — axile, pliuri inghinale, regiune genitală — ; starea de sănătate a pielii este direct proporțională cu exigența din acest punct de vedere: această practică — *apa și săpunul* — *reprezintă singura metodă, dar foarte eficientă, de prevenire a dermatomicozelor superficiale.*) De exemplu, astuparea porilor, ca urmare a deficiențelor de igienă personală, prin alterarea funcțiilor glandulare (hipersecreție de sebum prin tulburări hormonale), prin mici traumatisme etc. este urmată de supraînmulțirea bacteriilor de colonizare în glandele anexă și foliculii piloși și, adesea, de apariția infecțiilor: foliculite, acnee pustuloasă, hidrosadenită.

— La nivelul mucoaselor, această funcție este asigurată de același *flux de la interior la exterior al secrețiilor* glandelor exocrine (salivă, lacrimi, mucus nazo-faringian, bronșic, vaginal, cerumen, bilă etc.) *și excretelor naturale* (urină, materii fecale).

— *Epiteliile ciliate prin acțiunea de „măturare" a cililor vibratili au un deosebit rol în eliminarea mucusului încărcat cu microbi* la nivelul TRS (cu o viteză de 1—3 cm pe oră), fenomen favorizat uneori de *reflexul tusei*. Eficiența acestor mecanisme este măsurată prin marea predispoziție la infecții bacteriene ca urmare a fluidificării mucusului și distrugerii masive a epiteliului bronșic ciliat determinat de infecții virale, alterări mecanice prin bronhoscopie, paralizii funcționale determinate de răcirea prelungită a mucoasei, de anestezice etc. Acest mecanism *de spălare* este foarte eficient și în menținerea sterilității tractusului genital superior la femeie.

Sterilitatea tractusului urinar este asigurată de *micţiuni în ritm fiziologic cu evacuarea completă a urinii* : simpla modificare a acestui „ritm fiziologic de spălare" prin stază urinară (determinată de *decubitus* forţat, neglijenţă, sarcină, obstrucţii anatomice congenitale, postinfecţioase etc. sau alterări de debit urinar), evacuarea incompletă a urinii, favorizează contaminarea ascendentă a urinii vezicale şi, prin distensie, însămînţarea, colonizarea şi infectarea acestei mucoase vezicale (cistite), a epiteliilor ureteral . . . , renal (nefrite), cauză de insuficienţe renale.

b) **Bariere chimice.** *Învelișul acid cutanat* (*p*H 3—5) normal este asigurat de acizi grași cu lanț lung, ca acidul oleic, și este nociv pentru numeroase bacterii patogene *(Streptococcus pyogenes, Corynebacterium diphteriae, S. typhi)* ; ajunse pe pielea normală, astfel de bacterii dispar în decurs de 1—2 ore ; puține sînt bacteriile rezidente bine adaptate (tabel 11).

Acidul clorhidric conferă *p*H-ul foarte scăzut al sucului gastric (*p*H 1—2), concentrație bactericidă pentru majoritatea speciilor ingerate odată cu apa și alimentele. Această barieră realizează o continuă sterilizare a stomacului și o asigură pe aceea a duodenului și jejunului superior ; poate fi alterată de regimuri alimentare și băuturi nefiziologice care paralizează secrețiile și le diluează temporar, de hipoclorhidrii patologice.

Lizozimul este o enzimă mucolitică specializată în liza bacteriilor (*Flemming*, 1922). Este prezent și activ în lacrimi, salivă, mucus nazal, ca și în țesuturi și umori (este absent în LCR, umoarea apoasă, transpirație, urină). Este o proteină bazică, cu gr. mol. mică, care desface zaharurile din componentele glicopeptidice ale stratului bazal al peretelui, determinînd liza ; acționează mai puternic asupra bacteriilor gram-pozitiv, mai bogate în glicopeptid accesibil și mai puțin bogate în structuri superficiale : *Micrococcus (M. lysodeikticus), Sarcina, Bacillus megaterium, Bacillus anthracis*, și asupra variantelor „R" în general. Accelerează liza bacteriilor patogene gram-negativ și gram-pozitiv aflate sub acțiunea anticorpilor și a complementului ; facilitează fagocitoza.

Bila are acțiune neutralizantă asupra toxinelor.

Lichidul prostatic are activitate antibacteriană demonstrată față de bacterii gram-negativ.

c) **Bariere celulare.** Celule fagocitare sînt prezente în mucoase și reprezintă cel mai important mecanism antiinfecțios al plămînului : datorită numeroșilor factori care funcționează la nivelul TRS, plămînul este normal steril, dar, în cazuri de deficiență a acestor factori, m. pot ajunge prin inspir pînă la bronșiole și alveole ; epiteliul respirator este însă sediul unei fagocitoze active : monocitele fixe din conductul alveolar înglobează toate particulele străine ajunse aici.

d) **Antagonismul bacterian.** „Flora rezidentă" comensală și saprofită reprezintă pentru învelișurile corpului o foarte eficientă barieră antiinfecțioasă prin antagonismul opus microbilor care îl contaminează permanent (v. cap. V, 7). Prin prezență și metabolism, ele împiedică colonizarea cu specii patogene ; acest antagonism face ca persistența m. care contaminează mereu tegumentele și mucoasele să fie de scurtă durată, „floră flotantă" ; exemple :

Streptococcus salivarius, rezident al mucoasei bucale, produce peroxid de hidrogen bactericid pentru meningococ și bacilul difteric.

Lactobacillus acidophilus și alte specii *Lactobacillus* (cunoscute sub denumirea de bacili *Döderlein*), comensali ai vaginului, fermentează glicogenul derivat din epiteliul vaginal, asigurînd o aciditate care inhibă dezvoltarea pe această mucoasă a speciilor patogene.

La cel puțin 20% din indivizi, pot fi puși în evidență pe piele comensali *producători de variate substanțe antibiotice pentru specii patogene.*

Ruperea echilibrului florei normale a intestinului, prin administrare orală necontrolată de A. cu spectru larg, suprimă această barieră : administrarea de streptomicină mărește susceptibilitatea voluntarilor la infecția tifoidică, mărește de 100.000 de ori pe aceea a șoarecilor la infecția cu *S. enteritidis* ; animalele *germ-free* sînt mai sensibile la infecții.

2. FACTORI NESPECIFICI INTERNI

Microbii, care dintr-o cauză oarecare (plagă, stază urinară etc.) au traversat barierele de suprafață, întîlnesc în țesuturi și umori alți factori antiinfecțioși. Eficiența acestora reiese din faptul că, *în ciuda numeroaselor soluții de continuitate care se produc mereu atît la nivelul tegumentelor cît și al mucoaselor* (*bucală, genitală*) *și a pătrunderii frecvente a microbilor în țesuturi, boala infecțioasă se instalează rar.*

a) **Bariere mecanice.** Țesutul dens celular conjunctiv, cimentat de substanța gelatinoasă-elastică-fibroasă-intercelulară, ,,ciment intercelular'', în alcătuirea căruia intră mucopolizaharidul vîscos, acidul hialuronic, și colagenul o substanță albuminoidă, limitează sau chiar împiedică progresia m. în țesuturi (permeabilizarea este realizată de unele bacterii prin enzime specializate, hialuronidaze, colagenază).

Presiunea sanguină și contracția pereților elastici ai vaselor împiedică, într-o oarecare măsură, pătrunderea m. în circulație în cazul rupturilor mici.

b) **Factori umorali.** Este de mult timp cunoscută capacitatea bactericidă a serului sanguin, *independent de prezența anticorpilor și a complementului* ; această capacitate aparține lizozimului și unor polipeptide bazice, betalizine și alte substanțe insuficient definite (leukine? ; v. cap. XVIII, B).

Polipeptidele bazice ar avea o acțiune antibacteriană analoagă antibioticelor din grupa ,,polimixine'' (polipeptide bazice) ; adsorbite prin peretele bacteriilor sensibile, provoacă moartea acestora prin dezorganizarea funcției m. c. p. : *spermina* și *spermidina*, derivați poliaminici celulari sînt activi față de *Myc. tuberculosis*, *Staph. aureus* ; *beta-lizina* (natură chimică neprecizată) este activă numai asupra bacteriilor gram-pozitiv ; *lactinul*, proteină prezentă în laptele de mamă, inhibă înmulțirea speciei *Str. pyogenes*, protejînd mama de mastita puerperală streptococică și pe sugar de infecția faringiană.

c) **Factori celulari.** Sistemul reticulohistiocitar, reprezentat de totalitatea celulelor limfoide, oriunde s-ar afla ele în organism, și de celulele albe ale sîngelui, PN și M, deține proprietăți constituționale fundamentale, prezente la toate vertebratele și chiar la nevertebrate :

— diapedeză,
— fagocitoză, pinocitoză,
— elaborare de enzime litice.

În virtutea lor, microbii (ca și corpii străini nemicrobieni), ajunși în țesuturi sau umori și preluați de limfă sau sînge, oriunde s-ar opri, într-un sediu limfoid sau la poarta de intrare, sînt localizați de *procesul inflamator nespecificat imunologic* marcat de diapedeza inițială a microfagelor (PN) care încep *fagocitoza.*

(i) *Inflamația „nespecificată”* imunologic* reprezintă reacția de apărare a organismului față de „alterarea inițială” determinată de prezența, iritația mecanică și chimică produsă de înmulțirea m. pătrunse în țesut; ea duce la localizarea infecției la poarta de intrare, opunîndu-se progresiei și generalizării.

Inflamația începe cu o vasodilatație locală *(rubor)*, aflux de sînge care favorizează aportul de leucocite, urmat de transsudarea de plasmă în afara vaselor *(tumor)* și diapedeza leucocitelor prin pereții vaselor spre focarul de infecție, cu producere de căldură *(calor)* și durere *(dolor)* locală care însoțesc orice focar inflamator. Plasma concentrează în focarul de infecție factorii antimicrobieni umorali; afluxul de PN și de M (datorat unui chimiotactism pozitiv exercitat de anumiți factori difuzibili eliberați de celulele tisulare alterate de infecție) asigură fagocitoza. Prezența trombocitelor contribuie la formarea rețelei de fibrină și *delimitarea infecției,* uneori cu întreruperea circulației și, astfel, a posibilităților de progresie a microbilor.

Evoluția ulterioară a focarului infecțios astfel delimitat este foarte variabilă: *necrozare* (acid lactic crescut, oxigen scăzut, enzime bacteriene citolitice-citotoxice etc.); *abcedare* cu eliminarea conținutului necrozat, *fibrozare, calcifiere,*... Cel mai adesea însă, după sterilizarea focarului de infecție are loc rezorbția focarului de inflamație cu *restitutio ad integrum.*

(ii) *Fagocitoza „nespecificată” imunologic.* Sterilizarea bacteriologică a focarului inflamator este realizată de fagocite, celule specializate în *captare, înglobare* și *digerare* intracelulară; importanța acestor celule în apărarea anti-infecțioasă a fost demonstrată încă de *Mecinicov* (1905):

Microfage (mobile), polimorfonucleare neutrofile (PN);
Macrofage mobile, monocite mari circulante (M);
Macrofage fixe, reprezentate de histiocitele țesutului conjunctiv lax și de celulele litorale (celulele sinusoidale din splină, măduva osoasă, ganglionii limfatici, ficat, celulele adventițiale ale capilarelor sanguine).

Primele celule care ajung în focar sînt PN, ele înglobează și digeră numeroase bacterii; multe mor în această confruntare (puroi). Macrofagele ajung în focar mai tîrziu, fagocitînd atît bacterii rezistente la fagocitoza prin PN, cît și resturile celulare distruse; rețeaua de fibrină favorizează captarea bacteriilor. Macrofagele sinusoidale capturează și bacterii purtate de curentul sanguin și de limfă.

Bacteria este înglobată prin emitere de pseudopode, care se apropie, fuzionează; bacteria ajunge în citoplasmă într-o pungă a cărei perete este parte din membrana fagocitului; digestia este însoțită de dispariția granulelor intracitoplasmatice (degranulare): liza granulelor ar avea loc la con-

---

* Termen folosit pentru a o diferenția de *inflamația specifică,* consecutivă instruirii imunologice a SCIC și apariției anticorpilor.

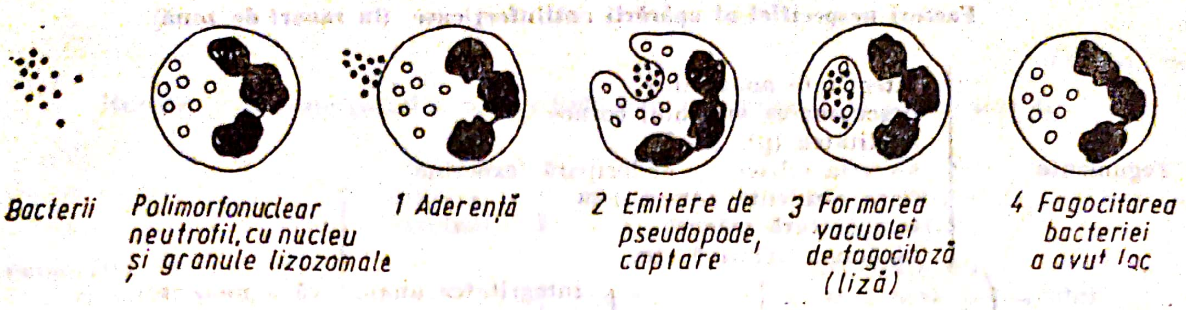

Bacterii
Polimorfonuclear neutrofil, cu nucleu și granule lizozomale
1 Aderență
2 Emitere de pseudopode, captare
3 Formarea vacuolei de fagocitoză (liză)
4 Fagocitarea bacteriei a avut loc

Fig. 57: Fagocitarea bacteriei de către leucocitul polimorfonuclear neutrofil.

tactul cu peretele pungii fagocitare și constă în eliberarea enzimelor lizozomale, formîndu-se astfel „vacuola” fagolitică. *Cohn* și *Hirsch* (1960) au demonstrat că granulele citoplasmatice ale PN și M sînt sedii de enzime foarte diferite, fosfataze acide și alcaline, ribonuclează, betaglicuronidază, lizozim, proteine bazice cu gr. mol. mică, numite generic „fagocitine”, cu activitate de degradare a peretelui bacterian.

Bacteriile susceptibile la digestia enzimatică sînt dezintegrate și omorîte în decurs de 1—2 ore după ingerare (v. fig. 57).

Fagocitoza „nespecificată” care are loc înainte de apariția anticorpilor este eficientă asupra bacteriilor lipsite de factori antifagocitari (stafilococ alb) și a tulpinilor degradate din acest punct de vedere (pneumococi necapsulați, streptococi beta-hemolitici lipsiți de capsula de acid hialuronic și de proteina-M etc.). Microfagele sînt însă omorîte în număr mare de tulpinile virulente, dotate cu enzime leucolitice active extracelular *(Str. pyogenes, Staph. aureus)* sau/și intracelular *(Str. pyogenes)*.

Unele bacterii patogene sînt înglobate dar supraviețuiesc și se înmulțesc chiar în macrofage; sînt *bacteriile facultativ intracelulare (Mycobacterium tuberculosis,* speciile *Brucella, Salmonella, Listeria)* dotate cu structuri speciale de perete (ceruri, glucidolipide, „endotoxine”).

În concluzie, factorii nespecifici ai apărării antiinfecțioase externi și interni sînt activi față de toate categoriile de microbi, fiind *deosebit de eficienți față de bacteriile cu potențial redus de patogenitate, mai puțin eficienți față de microbi înalt patogeni,* dotați cu factori speciali de virulență și toxicitate.

Orice factor care modifică integritatea anatomică și fiziologică a acestor bariere de apărare nespecifică favorizează, „condiționează” apariția infecțiilor.

Numărul redus al bolilor infecțioase pe care un individ le suferă în cursul existenței sale, prin contrast cu nenumăratele microorganisme patogene și condiționat patogene care contaminează continuu mucoasele și tegumentele, demonstrează marea eficiență a factorilor apărării nespecifice (tabel 26 a).

Tabelul 26a

Factori nespecifici ai apărării antiinfecţioase, (în raport de zonă)

- Tegumente
  - integritate anatomică
  - descuamarea stratului cornos
  - aciditatea (pH 3—5)
  - secreţia sebacee şi sudoripară (exocrină)
  - flora rezidentă antagonistă
  - temperatură scăzută
  - uscăciune relativă etc.
- Cavităţi natural deschise
  - Tractus respirator(TR)
    - superior (TRS)
      - integritatea anatomică a mucoasei
      - traiect sinuos nazofaringotraheobronşic
      - pătura de mucus aderent
      - *clearence* muco-ciliar
      - macrofage, microfage
      - lizozim
      - floră rezidentă antagonistă
      - reflex de tuse şi de strănut
    - inferior (TRI)
      - integritate anatomică
      - macrofage alveolare
  - Tractus digestiv (TD)
    - gura
      - integritatea anatomică a mucoasei
      - secreţia salivară (exocrină)
      - lizozim
      - flora rezidentă antagonistă
      - epiteliu pavimentos rezistent
    - stomac
      - integritatea anatomică a mucoasei
      - aciditate (pH 1—2)
      - evacuare continuă a secreţiei gastrice (exocrină)
    - duoden
      - integritatea anatomică a mucoasei
      - acţiunea antibacteriană a bilei
      - bila (secreţie exocrină)
    - intestin
      - integritatea anatomică a mucoasei
      - flora rezidentă antagonistă
      - glande exocrine
      - peristaltism (scaun regulat)
  - Tractus urinar (TU)
    - integritatea anatomică a mucoasei
    - traiectul lung al uretrei — ureterelor
    - spălarea fiziologică a TU
      - ritm normal al micţiunilor
      - debit urinar normal
      - evacuare completă a vezicei la fiecare micţiune
    - aciditatea urinei (pH 5,7—5,8 pentru adult)
    - glande anexe exocrine
    - lichid prostatic cu acţiune antibacteriană
  - Tractus genital la femei (TGF)
    - integritatea anatomică a mucoasei
    - epiteliu ciliat în trompe şi uter
    - epiteliu pavimentos rezistent în vagin
    - secreţie mucoasă aderentă (exocrină)
    - aciditate vaginală
    - floră rezidentă antagonistă
    - lizozim
- Zone de minimă rezistenţă
  - (1) lichid cefalo rahidian — meninge;
  - (2) leziuni endocardice şi endovasculare congenitale sau dobîndite poststreptococice, chirurgicale etc.;
  - (3) zone de creştere a oaselor lungi.
  - (4) zone traumatizate.

Tabelul 26b

Rezistența antiinfecțioasă a unui individ (om, sau animal), la un moment dat

- *imun*, față de unii microbi, împotriva cărora a fost imunizat:
  - artificial (vaccinat)
    - v. programul de vaccinări obligatorii și ocazionale în RSR și alte țări (tabel 34).
  - prin infecții naturale
    - aparente (boli infecțioase)
      - cunoscute prin anamneza bolnavului;
      - puse în evidență prin teste serologice;
    - inaparente:
      - puse în evidență prin teste serologice;
- *receptiv* față de ceilalți *microbi* (neimunizat);
- *rezistent, sau nu*[1], *față de bacterii condiționat patogene și accidental patogene*
  - *prin factori nespecifici externi* (de înveliș): cu eficiență locală la nivelul porților de intrare (mucoasele TR, TD, TU, TG);
  - *prin factori nespecifici interni* (celulari, tisulari, umorali): cu eficiență generală sau sistemică.

---

[1] Un același individ poate fi dotat cu bune mecanisme de apărare la nivelul învelișurilor dar poate prezenta deficiențe de apărare celulară, fie genetice, fie temporare (dobîndite datorate unor terapii imunodepresive, sau unor boli anergizante); sau, un același individ poate fi foarte rezistent la ITU, dar foarte sensibil la infecțiile TRS, datorate alterărilor locale de mucoasă, și invers.

C. IMUNITATEA ANTIINFECȚIOASĂ SAU REZISTENȚA DOBÎNDITĂ

De milenii, s-a concretizat noțiunea că trecerea printr-o anumită boală epidemică conferă organismului vindecat *rezistență specifică*, uneori pentru toată viața: vindecarea de variolă determină rezistență antivariolică etc. Geniul popoarelor a descoperit de asemenea metode pentru prevenirea unor boli grave cu mare letalitate prin inducerea unei boli ușoare: variolizarea, metodă folosită de vechii chinezi și care consta în depunerea pe pielea scarificată, înțepată, sau pe mucoasă, a unei pulberi preparată din puroi sau cruste de leziuni variolice; copiii variolizați făceau o boală atenuată și supraviețuiau în timpul epidemiilor ulterioare de variolă, fetele scăpau totodată de desfigurarea produsă de cicatricele indelebile lăsate de leziunile de variolă în special pe față. În 1796 *Edward Jenner* făcea cunoscută observația și experiența prin care demonstra posibilitatea imunizării antivariolice a omului prin inoculare de „vaccină" (variola vacilor) etc.

Imunitatea este starea de rezistență specifică antiinfecțioasă dobîndită de fiecare individ în timpul vieții sale.

Pe lîngă (1) rezistența înnăscută de specie și (2) prin factori nespecifici, de care se bucură toți indivizii speciei, (3) fiecare individ capătă propria sa rezistență, pe măsură ce „face cunoștință" cu diferiți microbi, prin proprie experiență imunologică, *imunitate*.

Termenul vine de la latinescul *immunis* = scutit, apărat. În dreptul feudal, „*immunitas*" *era un privilegiu, o prerogativă acordată prin lege numai anumitor indivizi* aparţinînd claselor sociale suprapuse (privilegiu acordat „aleşilor naţiunii" de a nu fi traşi la răspundere pentru actele lor pe toată durata de exerciţiu a mandatului). Acest termen juridic, transpus în biologie, *imunitate*, se referă la *starea specială* de rezistenţă antiinfecţioasă, „privilegiu" de care se bucură numai *anumiţi indivizi ai speciei*, aceia care au căpătat anticorpi, substanţe care se caracterizează prin specificitatea de cuplare cu antigenul.

Pătrunderea în organism a microbilor sau a produselor lor vaccinante şi contactul cu celulele sistemului imunologic competent determină modificări cu apariţia de:

— *anticorpi celulari, limfocite specific sensibilizate* (LSS), efectori sau mediatori ai imunităţii celulare, şi

— *anticorpi umorali, imunoglobuline* (Ig), efectori sau mediatori ai imunităţii umorale (cap. XIX).

Diferenţiem o *imunitate umorală* (IU) asigurată de imunoglobuline (anticorpii antidifterici protejează organismul împotriva toxiinfecţiei difterice; anticorpii antirujeolici îl protejează de rujeolă etc.) şi o *imunitate mediată de celule* (IMC), ca în tuberculoză.

Sistemul celular care, intrînd în contact cu antigenul, determină apariţia de anticorpi umorali şi celulari poartă numele de *sistem celular imunocomponent* (SCIC); aceste capitole sînt tratate în *Partea* a III-a.

FACTORI CARE INFLUENŢEAZĂ REZISTENŢA ORGANISMULUI LA INFECŢIE

Mecanismele prin care organismul îşi asigură rezistenţa la infecţie sînt influenţate de starea fiziologică generală a organismului şi de numeroşi factori de mediu extern.

Starea fiziologică

Ca şi alte funcţii, mecanismele de apărare pot fi influenţate defavorabil de orice boală şi mai ales de bolile metabolice — diabet, neoplazii — deficienţe imunologice congenitale sau cîştigate (prin boli infecţioase anergizante, de exemplu), terapii imunodepresive, malnutriţie; rolul lor în favorizarea apariţiei infecţiei este demonstrat statistic.

Relaţiile între malnutriţie şi bolile infecţioase sînt cunoscute din vechi timpuri şi au fost confirmate de studii experimentale; influenţa este reciprocă, bolile infecţioase accentuează starea de malnutriţie şi malnutriţia scade rezistenţa generală la infecţie, agravînd evoluţia bolilor:

diminuează producerea de anticorpi,
alterează răspunsul inflamator,
alterează activitatea fagocitară a micro- şi macrofagelor,
alterează producerea de substanţe protectoare nespecifice antibacteriene (lizozim) şi antitoxice,

modifică integritatea tisulară,
modifică funcțiile endocrine,
modifică ritmul de cicatrizare a plăgilor,
modifică flora intestinală, și altele.

În populații malnutrite, deficiențe proteino-calorice, atît incidența cît și mortalitatea prin boli infecțioase sînt crescute.

Factori de mediu

Răceala ca și căldura prea mare, umezeala, radiațiile ionizante, concentrații prea mari de ozon sau CO_2, numeroșii poluanți chimici etc. sînt tot atîția factori care influențează puternic capacitatea de apărare antiinfecțioasă. Cîteva exemple sînt demonstrative:

Găina este natural rezistentă la infecția cărbunoasă, dar scăzîndu-i-se temperatura la 37°C prin *imersare în apă rece*, devine receptivă; experiența aparține lui *Pasteur* și arată că și *rezistența înnăscută de specie* poate fi uneori învinsă, că nu este absolută pentru orice infecție.

Prin experiențe similare a fost învinsă și rezistența naturală la aceeași infecție a broaștei țestoase, ridicîndu-i-se temperatura corpului la 37°C.

Studii statistice demonstrează că morbiditatea prin pneumonii și bronhopneumonii este mai mare în sezonul rece și în zone cu aer poluat etc.

În concluzie la aceste succinte capitole, apărarea antiinfecțioasă a unui organism poate fi (a) genetic deficitară (deficite ale SCIC, hormonale etc.), (b) poate deveni deficitară datorită bolilor suferite, tratamentelor imunodepresive, subnutriției și că (c) poate fi influențată defavorabil prin modificări ale condițiilor normale de mediu; aceste cauze fac uneori ca în cursul infecției, din interacțiunea factorilor microbieni de patogenitate cu factorii de apărare ai organismului infectat, primii să precumpănească și să apară decesul.

BIBLIOGRAFIE

1. ASMUNDSON T., KILBURN K. H.: Mucocilliary clearance rates at various levels in lungs. *Amer. Rev. Resp. Dis.*, *102*, 388–397, 1970.
2. BANG B. G., BANG F. B.: Experimentally induced changed in nasal mucous secretory systems and their effect on virus infection in chickens. *J. Exp. Med.*, 130, 105–138, 1969.
3. DUCA E., BUIUC D.: Aportul laboratorului de microbiologie în investigația reno-urinară. Examenul bacteriologic al urinii. *Bacteriol. Virusol. Parazitol. Epidemiol.*, București, *XXI*, 4, 193–206, 1976.
4. GAIDOS A.: Biochimie des lysozymes. *Presse Méd.*, *79*, 8, 351–354, 1971.
5. GEVAUDAN M. J.: Les principes de la lutte contre l'infection. *MP*, 2, p. 108, 1975.

6. GOLDSTEIN E.: The effect of silicosis on the antibacterial defense of the murine lung. *J. Infect. Dis.*, *120*, 2, 210–216, 1969.

7. KERNBAUM S., VILDE J. L.: Étude du pouvoir candidacide des polynucléaires neutrophiles humains. *Path. Biol.*, *22*, 1, 61, 1974.

8. KLEBANOFF S. Y.: Antimicrobial activity of catalase at acid pH. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, *132*, 2, p. 571, 1969.

9. LEGENDRE P., MERLET M., LACUT J.-Y., LENG B., AUBERTIN J.: Du test au NBT dans le diagnostic d'une infection bactérienne. *Bordeaux Méd.*, *9*, 21, 1619–1623, 1976.

10. MILLER T.E., WATSON D. W.: Biochimical characterization of the antimicrobial histone released by deoxyribonuclease and lactic acid. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, *131*, 2, p. 339, 1969.

11. MONAFO W. W., TANDON S. N., BRANDLEY R. E., CONDICT E.: Bacterial contamination of skin used as a biological dressing. *JAMA*, *235*, 12, p. 1248, 1976.

12. STOSSEL T. P.: Phagocytosis. *N. Engl. J. Med.*, *290*, nr. 13, 14, 15, 1974.

13. VEDROS N. A., ROBINSON P. J., GUTEKUNST R. A.: Isolation and characterization of a bacterial inhibitor from human throat washings. *Proc. Soc. Biol. Med.*, *122*, 1, p. 249, 1966.

XIV. CONDIȚIONAREA PATOGENITĂȚII

GRAD DE PATOGENIE A SPECIILOR. CRITERII DE IMPLICARE ETIOLOGICĂ.

> ,,... 69% din decese la 450 de bolnavi de cancer au fost atribuite infecției".
> *(J. of Infec. Dis., 134, 5, 510, 1976).*

În capitolele precedente am folosit adesea termenii, *nepatogen, înalt patogen, condiționat patogen, accidental patogen*; se referă la grade de patogenitate intrinsecă a bacteriilor (dotare cu factori de patogenitate), a căror manifestare este condiționată de gradul și tipul de rezistență a organismului (dotare cu factori de apărare).

Definirea acestor grade de patogenitate este posibilă acum, după ce au fost parcurse capitolele privitoare la factorii de care depind: după cum scriu *Scrimshaw*, *Taylor* și *Gordon* (OMS, 1971), referindu-se la infecție, ,,agentul patogen nu este decît unul din cei trei factori ai dramei, ceilalți doi fiind gazda și mediul".

Cît cunoaștem din patogenitatea microbiană?

Dezvoltarea medicinei a avut și are loc prin descoperirea treptată a etiologiei bolilor* și, consecutiv, a metodelor de terapie și prevenire. *Descoperirea etiologiei microbiene a arătat că aceasta este cea mai frecventă cauză de îmbolnăvire, cu toate că, numărul modelelor patogenetice de etiologie microbiană este și azi insuficient cunoscut.* Așa cum reiese din prezentarea capitolelor precedente cunoaștem parțial (1) manifestările acute și parte din cele cronice ale infecțiilor și toxiinfecțiilor, (2) considerăm un mare progres deslușirea unora din mecanismele complicațiilor imunopatologice de etiologie microbiană (v. cap. XX), dar știm încă puțin despre consecințele infecțiilor latente, persistente:

(3) intervenția microbilor în bolile genetice,
(4) în transformarea neoplazică,
(5) în determinarea malformațiilor congenitale.

Ipoteze tot mai consistente sînt elaborate privind etiologia microbiană (6) în multe boli cu patogenie alergică, ca boli degenerative de colagen, LED**, vasculite, (7) în boli neurologice, (8) boli endocrinologice, (9) psihiatrice. Numeroase din aceste capitole de patologie medicală încep cu un ,,probabil" referitor la etiologie, ,,probabil microb" și cu semne de întrebare.

---

* Cauzele bolilor: agenți mecanici, fizici, chimici, biologici, genetici etc.

** Lupus eritematos diseminat

Studiul microbilor, de peste o sută de ani, a scos în evidență mari variații de grad de patogenitate: (i) unii microbi determină boli cu mare mortalitate și/sau cu mare extindere în masa populației, *înalt patogeni*, (ii) alții pot persista îndelung pe mucoasele individului neimunizat și dau îmbolnăviri numai în anumite condiții, *conditionat patogeni*, (iii), infecția dată de alții este cu totul întîmplătoare, *accidental patogeni*, un accident care-i introduce în sedii de *minoră rezistență* profunde din organism (cord), cu apărare deficitară (naturală sau căpătată), sau ca în experiment, cînd se folosește seringa cu *inoculum* și se injectează animalul pentru a reproduce o infecție.

Pe de altă parte, se observă, istoric, o continuă modificare a incidenței îmbolnăvirilor prin cele trei categorii de microbi: majoritatea infecțiilor prin microbii înalt patogeni fie că au dispărut, fie că a scăzut mult morbiditatea, fie că s-a modificat tabloul clinic, în timp ce, are loc o creștere a incidenței îmbolnăvirilor prin condiționat și accidental patogeni. Se prospectează astfel că *patologia infecțioasă a viitoarelor două decenii va fi patologia prin condiționat și accidental patogeni*, dacă nu se vor lua măsuri de profilaxie.

Astfel de afirmații obligă la o recapitulare istorică a metodelor care au dus la primele succese în combaterea infecțiilor prin microbi înalt patogeni și la cauzele care creează noua patologie infecțioasă, modificată, actuală și de perspectivă. Ele permit deducerea acelor metode a căror rezultate înregistrate peste 1—2 decenii să poată fi la fel de pozitive ca și acelea inițiate de promotorii microbiologiei pentru problemele de patologie care erau atunci pe primul plan.

Gradul de patogenitate* este apreciat în raport de (i) *gravitatea alterărilor*, (ii) *letalitate***, (iii) *incidența îmbolnăvirilor****, exprimarea patogenității este condiționată de starea de rezistență a organismului contaminat.

1. MICROORGANISME NEPATOGENE

Microorganismele nepatogene pentru om, incapabile să determine îmbolnăviri, sînt acelea care nu găsesc condiții de adaptare și înmulțire în organismul uman și nu secretă enzime sau otrăvuri toxice pentru celule umane (ele contaminează însă învelișurile, unele le populează, sînt văzute în frotiuri, unele cresc pe mediile folosite pentru diagnostic, făcînd necesare metode speciale pentru a le diferenția de m. patogene).

2. MICROORGANISME PATOGENE

Patogene sînt toate microorganismele care pot determina îmbolnăviri indiferent de mecanism, dar:

---

* Cu anumite excepții, această gradare este valabilă pentru toate categoriile de microorganisme.

** Frecvența deceselor, în procente, pentru o boală, este expresie a gravității bolii (număr de decese raportat la număr de indivizi bolnavi).

*** Frecvența noilor îmbolnăviri sau *morbiditate*, într-o populație receptivă (neimunizată) exprimată în număr de îmbolnăviri la 100.000 indivizi într-o populație dată.

Tabelul 27

Condiționarea patogenității[1] bacteriilor infectante[2] și caracterul epidemiologic al infecțiilor în raport cu gradul de patogenitate

Grad de patogenitate intrinsecă a bacteriilor (B)[3]:		Factori de condiționare a manifestării patogenității intrinsece a bacteriilor:	Caracterul epidemiologic al infecțiilor:		
B. înalt patogene	a. *capabile să depășească tegumentele și/sau mucoasele normale sau toxigene;* b. *capabile să învingă bariere interne* (*tisulare, celulare*); c. *parazite* (*obligator intracelulare, facultativ intracelulare sau extracelulare*);	(a) lipsa imunității	epidemigene[6], cu letalitate mare (ex. pesta), ,, ,, ,, redusă (ex. tularemia), sporadice cu letalitate mare (ex. tetanos), producătoare de sechele grave (ex. *S. pyogenes* A).		
B. oportuniste, condiționat patogene	incapabile să depășească tegumente și mucoase normale; b. *capabile să învingă barierele interne;* c. *parazite* (*facultativ intracelulare sau extracelulare*).	(a) lipsa imunității; (b) alterarea tegumentelor și/sau mucoaselor	sporadice; epidemice în colectivități închise.		
B. accidental patogene[4]	incapabile să depășească tegumente și mucoase normale; incapabile să învingă bariere interne; c. *parazite extracelulare, în zone de minimă rezistență*[5]:	(a) lipsa imunității; (b) inoculare accidentală în zone de minimă rezistență	sporadice	în masa populației	endocardite subacute, meningite;
				„de spital"	endocardite subacute.

---

[1] Patogen = orice microb capabil să determine infecție aparentă sau boală infecțioasă.
[2] Infectant = ,, ,, ,, ,, ,, ,, (capabil de parazitism).
[3] Dotare cu factori de virulență (celulari sau enzimatici) și/sau toxine.
[4] Nu posedă factori de virulență și nu elaborează exotoxine.
[5] Sedii din organism în care factorii de apărare celulari nu ajung, sau nu sînt eficienți (l.c.r., endocard lezat, . . .).
[6] Infecții cu mare morbiditate; (morbiditate = procent de îmbolnăviri la număr de infectați).

— oricît de patogen ar fi un microb, el nu infectează organismul imunizat (tabel 27); există însă indivizi genetic deficitari din punct de vedere al capacităţii de reactivitate imunologică, hipogamaglobulinemici şi limfopenici; astfel de organisme nu se imunizează şi pot repeta infecţii şi toxiinfecţii cu un acelaşi microb;

— o bacterie cu patogenitate intrinsecă redusă nu va fi capabilă să determine boala chiar dacă organismul este neimunizat, cu condiţia integrităţii factorilor şi mecanismelor constituţionale de apărare; alterarea acestora duce însă la manifestarea patogenităţii, boala infecţioasă.

Intensitatea acestei manifestări depinde de:

— gradul de patogenitate intrinsecă (genetic determinat) a bacteriei şi

— gradul de alterare a apărării locale şi generale (tabel 28).

Tabelul 28

Posibilităţi de manifestare clinică a patogenităţii speciei *Staphylococcus aureus*, condiţionat patogen

Infecţii la poarta de intrare	bacteriemie sau septicemie	localizări secundare (*locus minimae resistentiae*)	boli de sensibilizare tip celular	Frecvenţa infecţiilor
—	—	—	—	(purtător sănătos)
+	—	—	—	++++
+	—	—	+(tegumentare)	+++
+	+	—	—	++
+	+	+	—	+
—	+	—	—	+
—	+	+	—	+
—	—	+	—	+

Bacterii înalt patogene

Numim înalt patogene *bacteriile care depăşesc cu uşurinţă barierele normale ale apărării nespecifice* (externe şi interne) ale organismului neimunizat (susceptibil); ele determină îmbolnăviri cu *incidenţă mare* (bacterii epidemigene) şi/sau *letalitate ridicată acută* şi/sau *complicaţii cronice grave.*

Criterii de implicare etiologică a bacteriilor înalt patogene: cel mai adesea, simpla prezenţă a unei specii înalt patogenă alături de manifestarea clinică — deseori tipică — este criteriul suficient de implicare etiologică a speciei (*Salmonella typhi*).

Bacterii condiţionat patogene

Bacteriile eficient reţinute de factorii externi ai apărării, putînd persista îndelung pe tegumente şi mucoase normale; *sînt însă mai greu eliminate de factorii interni ai apărării antiinfecţioase nespecifice.* Ca urmare, manifestarea patogenităţii lor este condiţionată de (i) alterarea barierelor nespecifice externe şi interne, scăderea generală a rezistenţei antiinfecţioase, de unde şi denumirea de „infecţii oportuniste" şi de (ii) lipsa imunităţii. În raport de acestea, dau fie infecţii la poarta de intrare, inclusiv cavităţi natural deschise, fie infecţii generale sau/şi localizări secundare (tabel 28); situaţii speciale sînt create de unele din aceste bacterii în spitale (v. cap. XI).

Implicarea în etiologia infecţiilor a unei specii condiţionat patogene prezentă şi pe învelişul normal cutanat sau/şi mucoase, diferă după cum bacteria este izolată din produs normal steril (sînge, l. c. r., lichide din seroase, colecţii închise), sau din produse contaminate (urina, sputa) : (a) în primul caz, produse normal sterile, criteriile de implicare etiologică sînt aceleaşi ca pentru b. accidental patogene (dar mai puţin severe) ; (b) criteriile de implicare etiologică a bacteriei condiţionat patogene izolată din produse contaminate sînt numai cantitative : predominare numerică a infectantului în raport cu bacteriile de contaminare.

Bacterii accidental patogene

Accidental patogene sînt bacterii și fungi lipsite de factori proprii de virulență și toxine, incapabile să depășească barierele externe și interne ale apărării : ca urmare, apariția infecției este condiționată de (i) scăderea generală a rezistenței antiinfecțioase, (ii) introducere accidentală, *pasivă*, a microbului în organism și (iii) mai ales de existența unei leziuni tisulare profunde, sau altă zonă de rezistență minoră, în care, odată ajunsă, bacteria se găsește la adăpost de factorii umorali și celulari ai apărării interne. Introducerea accidentală are loc prin leziuni traumatice (traumatisme craniene, vertebrale, fracturi, microtraumatisme), chirurgicale (chirurgie cardiovasculară). Manifestarea infecției are loc în sedii profunde, nu dau infecții la poarta de intrare, tegument sau mucoasă. Cele mai neașteptate bacterii și fungi pot pătrunde accidental și pot da astfel de infecții, încît, unii microbiologi exagerează spunînd : „arată-mi o bacterie și-ți voi arăta un patogen”.

Dotarea acestor bacterii se reduce la un echipament enzimatic de obicei greu adaptabil la condițiile de înmulțire oferite de organism, dar care reușesc să se adapteze în zone lipsite (sau aproape lipsite) de factori de apărare (valvule cardiace nevascularizate și totodată lezate de cardita reumatismală, l. c. r., zone de creștere a osului) în care fagocitoza este practic absentă, lizozimul și alți factori umorali sînt absenți, sau în cantitate mică.

Adaptîndu-se greu și înmulțindu-se încet bacteriile accidental patogene dau infecții cu evoluție lentă dar cu alterări grave, cel mai adesea irecuperabile : meningite posttraumatice, endocardite subacute, osteomielite.

Astfel de accidental patogeni pot fi atît saprofiți ai mediului extern, unii fungi, și bacterii ca *Acinetobacter* (v. Cap. XXIII), cît și bacterii rezidente pe tegumente ca *Staph. epidermidis*, *Propionibacterium acnes*, *avidum*, sau rezidenți ai mucoaselor ca *Str. viridans* diferite specii.

Implicarea în etiologia infecţiilor a unei specii, nerecunoscută ca înalt sau condiţionat patogenă, necesită criterii speciale :

— În endocardite implicarea se face pe baza reizolării din hemoculturi repetate, iar reizolarea este confirmată prin cît mai multe teste de identificare pentru stabilirea identităţii de tulpină (morfotinctoriale, culturale, biochimice, sensibilitate la antibiotice ; mai rar este posibil pentru accidental patogeni identificarea serologică) ;

— În meningite, implicarea se bazează pe punerea în evidenţă a aceleiaşi morfologii şi colorabilităţi în frotiul de l. c. r. şi în cultură ; reizolarea este uneori de asemenea obligatorie.

BIBLIOGRAFIE

1. CASTHELAZ M.: Malabsorbtions intestinales dues aux antibiotiques. *Méd. et Malad. infect.*, *7*, 2 bis, 135—138, 1977.
2. HART P. D.: The compromised host and infection. II. Deep fungal infection. *J. Infect. Dis.*, *120*, 2, 169—191, 1969.
3. LATHAM M. C.: Nutrition and infection in rational development. *Science*, *188*, 4 188, 561—565, 1975.
4. NEUMAN M.: Problèmes soulevés par l'abus des antibiotiques: conséquences et inconvénients. *Ars Medici*, *32*, 4, p. 377, 1977.
5. RAIBAUD P., DUCLUZEAU R., TANCREDE C.: L'effet de barrière microbien dans le tube digestif: Moyen de défense de l'hôte contre les bactéries exogènes. *Méd. et Malad. infect.*, *7*, 2 bis., 130—134, 1977.
6. SCHRIMSHAW N. S., TAYLOR C. E., GORDON J. E.: *Interactions entre l'état nutritionnel et les infections*. Org. Mond. Santé, Série de Monographies No 57, Geneva, 1971.
7. TANCREDE C., AZIZI P., RAIBAUD P., DUCLUZEAU R.: Conséquences de la destruction des barrières écologiques de la flore du tube digestif par les antibiotiques. Perturbations de relations entre l'hôte et les bactéries potentiellement pathogènes. *Méd. et Malad. infect.*, *7*, 2 bis, 145—149, 1977.
8. * * *: Fungal septicaemia complicating intravenous hyperalimentation. *Lancet*, *1*, p. 27, 1972.
9. * * *: Santé publique et développement chez l'homme. Org. Mond. Santé, Sér. Rap. techn., 485, 1975.

Partea a III-a

BAZELE IMUNOLOGIEI ȘI IMUNOPATOLOGIEI

— Cine vrea să înțeleagă medicina timpului nostru *„est obligé de mettre son nez dans l'immunologie, science qui galope"*. (*Concours Méd.*, 24, *suppl.*, 1977).

XV. ANTIGENE

Alături de apărare prin factori constituționali nespecifici (prin care organismul rezistă invadării mediului său intern de către agenți animați și neanimați din mediul extern), de-a lungul filogeniei speciilor, la vertebrate, s-a dezvoltat sistemul celular imunocompetent* care dă răspunsuri specifice față de anumite substanțe numite *antigene*, ceea ce numim imunocompetență. Manifestările fundamentale ale imunocompetenței sînt : recunoașterea *non-self*-lui, memoria *non-self*-ului și specificitatea răspunsului.

Aceste manifestări s-au impus cunoașterii din vechi timpuri (omul a remarcat că supraviețuitorii epidemiilor de variolă rezistă la variolă, supraviețuitorii ciumei rezistă într-o nouă epidemie de ciumă ; *organismul păstrează deci memoria bolii prin care a trecut, o recunoaște și reacționează specific = rezistă infecției).*

Conceptul de specificitate imunologică s-a conturat treptat :

Popoare antice foloseau produse patologice recoltate de la bolnavii de variolă pentru a induce *rezistență specifică* antivariolică ;

Pasteur (1880) vaccina, imuniza activ, împotriva holerei găinilor folosind agentul etiologic al bolii, iar în 1881 vaccina împotriva cărbunelui, folosind agentul specific al cărbunelui ;

V. Babeș (1886) demonstra posibilitatea prevenirii rabiei cu seruri provenite de la animale vaccinate antirabic și în 1888 emitea *principiul seroterapiei specifice* în bolile infecțioase ;

Behring (1890) evidenția că serul animalelor imunizate cu toxină difterică neutralizează toxina difterică ;

Pfeiffer și *Issaeff* (1894) descopereau acțiunea specifică a serului imun urmărind modificările suferite de vibrionul holeric în infecția experimentală, sub influența anticorpului și a alexinei (complement) ;

Gruber și Durham (1896) puneau în evidență aglutinarea bacteriilor *in vitro* prin serul provenit de la individ imunizat specific ;

Kraus (1897) descoperea precipitarea antigenului solubil în prezența serului imun specific, care conține anticorpi etc.

S-a constatat că un organism poate răspunde prin formare de diferite tipuri de anticorpi față de, practic, orice antigen.

S-a constatat că *răspunsul imunologic poate determina nu numai reacții favorabile organismului, de apărare antiinfecțioasă și antitumorală, adică imunitate, ci și fenomene imunopatologice.*

---

* Prescurtări : SCIC = sistem celular imunocompetent ; CIC = celule imunocompetente ; Ag = antigen ; Ac = anticorp.

Imunologia este știința care studiază toate fenomenele datorate modificărilor induse de *antigen*, *in vivo* (imunitate, fenomene imunopatologice, toleranță), ca și reacțiile de recunoaștere Ag-Ac care au loc *in vitro* (folosite pentru diagnostic).

Primele substanțe cunoscute ca Ag, capabile de a induce apariție de Ac în organism, au fost bacteriile și toxinele bacteriene; s-a constatat apoi că apariție de Ac poate fi determinată și de celule neinfectante (globule roșii), de proteine netoxice de origine animală sau vegetală. S-a constatat că antigenele induc atît apariție de Ac umorali (imunoglobuline) cît și celulari (celule cu funcție anticorp, sau specific sensibilizate). S-a ajuns la definiții.

Antigen (Ag)*, sau *Ag complet*, este orice substanță care ajunsă în organism determină un răspuns imunologic, apariție de anticorpi, ceea ce numim *imunogenitate*, și este capabilă să reacționeze specific cu anticorpii respectivi (prin reacții Ag-Ac), atît *in vivo* cît și *in vitro*, ceea ce numim *antigenitate*.

Hapten**, sau *Ag incomplet*, este structura chimică lipsită de imunogenitate (incapabilă să determine apariția de Ac), dar dotată cu antigenitate: poate reacționa specific, atît *in vitro* cît și *in vivo*, cu Ac induși de antigene complete din care haptenul face parte ca determinant de specificitate.

A. CONDIȚIILE ANTIGENITĂȚII ȘI IMUNOGENITĂȚII

Pentru ca o substanță să fie antigen trebuie să îndeplinească anumite condiții: să posede o structură străină sistemului celular imunocompetent (SCIC), o greutate moleculară suficient de mare, să ajungă nemodificată pînă la SCIC, să persite ca atare un timp suficient pentru ca inițierea răspunsului imunologic să aibă loc.

1. ANTIGEN, SUBSTANȚĂ STRĂINĂ

Prima condiție a antigenității este ca substanța să fie chimic străină sistemului CIC din organismul în care pătrunde:

SCIC recunoaște ca Ag proprii *(self)* pe toate acelea cu care vine în contact în perioada sa de maturare și, ca urmare, nu formează Ac față de ele, ceea ce numim *toleranță imunologică naturală*.

Organismul moștenește celule cu potențial de a recunoaște toate antigenele; dar, în perioada de embriogeneză, clonele capabile de recunoaștere a antigenelor proprii, prin contact cu acestea, sînt eliminate, interzise. Această „cenzurare" a clonelor care ar putea fi dăunătoare propriului organism are loc în timusul embrionar în săptămînile 8–10 de sarcină.

După maturare, SCIC diferențiază ca Ag străine *(non-self)* pe acelea cu care nu a venit în contact în timpul maturării; ca urmare, va reacționa față de ele, (i) fie prin formare de Ac și reacție de rejet, eliminare, ceea ce numim *răspuns imunologic*, (ii) fie prin lipsă de răspuns, fenomen la fel de specific, numit *toleranță imunologică dobîndită*.

---

* *Antigen*, de la grecescul *anti-genan*, cu sensul de substanță care pătrunsă în organism determină o *reacție îndreptată împotriva ei însăși*.

** *Haptein* = a apuca (grec.)

Cu cît diferențele structurale dintre antigenul străin și antigenele proprii organismului în care a pătruns sînt mai mari, cu atît puterea lui imunogenică, măsurată în cantitatea de Ac. indusă, este mai mare: aceste diferențe sînt cu atît mai numeroase *cu cît molecula-Ag este mai complexă* și cu cît specia de la care provine este *mai îndepărtată în scara filogenetică* a organismelor vii, de specia producătoare de Ac. (Corolarul acestei condiții: cu cît speciile animale sînt mai înrudite, cu atît structurile lor antigenice au componente chimice comune mai numeroase; sau, o substanță este cu atît mai antigenică, cu cît gradul de înrudire zoologică cu specia producătoare de Ac este mai îndepărtat.) De aceea, Ag microbiene sînt foarte imunogenice în organismul uman și animal.

Originea Ag, în raport cu specia animală producătoare de Ac, le clasifică în *exogene* (hetero- și izo-Ag) și *endogene* (sau auto-Ag):

— *heteroantigene*, Ag exogene provenite de la altă specie (animală, vegetală, microbi);

— *izoantigene*, Ag exogene provenite de la un alt grup de indivizi din cadrul speciei producătoare de Ac (comune unor grupe de indivizi din cadrul aceleași specii); ele împart o specie în grupe antigenice (reflectînd variații genetice); de exemplu, grupele sangvine la specia om;

— *autoantigene*, substanțe devenite antigenice în propriul organism, ele induc apariție de autoanticorpi.

Originea autoantigenelor este diferită, iar infecțiile și toxiinfecțiile joacă roluri importante în determinarea manifestării sau apariției lor (tabel 29):

(i) În organism există Ag care, datorită poziției anatomice speciale a organelor de care aparțin, nu vin în contact cu CIC și de aceea nu sînt recunoscute ca proprii; prezența lor nu se manifestă imunologic atît timp cît bariera de segregare față de CIC rămîne normală. Numeroase infecții, ca și traumatismele, intervențiile chirurgicale, pot altera însă aceste bariere naturale; venind în contact cu CIC mature, aceste Ag sînt „tratate" ca *non-self* și față de ele apar autoanticorpi și, eventual, *boli de autoagresiune*.

(ii) Numeroase Ag celulare (hematii, leucocite, celule tisulare) ca și proteine umorale pot deveni „*non-self*" datorită unor modificări chimice de suprafață induse de agenți exogeni (agenți fizici, substanțe chimice simple, medicamente) inclusiv microorganisme, toxine și enzime microbiene; etiologia infecțioasă în apariția de autoantigene este discutată în foarte multe boli prin autoanticorpi: anemie hemolitică apare datorită adsorbției pe globulele roșii a unor polizaharide bacteriene, făcîndu-le reactive la anticorpul antipolizaharidic.

(iii) Unele boli prin autoanticorpi sînt explicabile prin existența de Ag comune structurii microbului infectant (streptococ beta-hemolitic grup A, de exemplu) și a organului afectat de boala alergică (cord): heteroanticorpii apăruți prin infecție streptococică acționează ca autoanticorpi față cu antigenul identic din cord (reacție încrucișată), determinînd alterările din cardita reumatismală.

Același mecanism poate funcționa și în boli prin autoanticorpi de etiologie neinfecțioasă; creierul, pe lîngă antigene cu specificitate de specie animală, are și antigene cu specificitate de organ. Ca urmare, un ser anti-creier de iepure poate reacționa cu Ag-creier de om: o vaccinare antirabică în care vaccinul este preparat din creier de iepure (infectat cu virus rabic) poate fi urmată uneori de dezvoltarea unei encefalite explicată prin comportarea Ac-anticreier de iepure ca veritabili autoanticorpi față de substanța nervoasă a organismului vaccinat.

Tabelul 29

Locul microorganismelor în determinarea de autoantigene și boli de autoagresiune

Originea autoantigenelor			Boli de autoagresiune:
i. **Antigene segregate** anatomic de propriul SCIC	Ag prezente din viața embrionară	cristalin, tractus uveal:	endoftalmia faco-anafilactică, oftalmia simpatică
		creier, măduvă, nerv periferic:	encefalomielite demielinizante, scleroza multiplă acută
		ADN-proteină:	lupus eritematos diseminat, artrita reumatoidă, poliartrită evolutivă, sclerodermie, dermatomiozită, periarterita nodoasă
		tireoglobulină:	boala Hashimoto, (tiroidita acută alergică).
	Ag prezente numai în viața adultă	sperma: laptele:	aspermatogeneza, boala autoalergică a glandei mamare, moartea în leagăn a nou-născutului.
Cauzele de efracție a Ag segregate pot fi: infecții, traumatisme, intervenții chirurgicale.			
ii. **Antigene modificate** prin:	infecții	bacterii intestinale: *Myc. pneumoniae*: virusuri…, etc.:	colita ulceroasă pneumonia atipică primară encefalomielite
	medicamente	peniciline și alte A-e sedormid, neoarsfenamina, chinidina, etc.	trombocitopenii, agranulocitoze, anemii hemolitice
	substanțe chimice simple:	săruri de metale grele, amine benzenice, acid picric, etc.	dermatoze de contact
	agenți fizici:	radiații, căldură, frig:	dermatoze.

Fiecare din aceste cauze poate induce modificarea Ag prin:
- degradări enzimatice,
- combinații chimice cu grupări moleculare active (anemia hemolitică),
- adsorbții pe molecule proteice și pe suprafețe celulare

Tabelul 29 *(continuare)*

Originea antoantigenelor:			Boli de autoagresiune
iii. **Heteroantigene** care pot funcţiona ca autoantigene (Ag „comune")	Antigene cu specificitate de organ :	antigen-creier, nerv periferic	encefalită post-vaccinare antirabică
		cristalin :	oftalmie simpatică postinfecţioasă LED (?)
		ADN (?) :	
	Antigene cu specificitate de funcţie	insulina :	autoalergii prin hormonoterapie
	Ag microbiene comune unor Ag tisulare :	streptococi grup A	GNA : Ag streptococic comun cu Ag de membrană bazală glomerulară (?) Cardita reumatismală : Ag streptococic comun cu Ag de sarcolema (?)

2. ANTIGEN, NATURA CHIMICĂ

Proteinele şi proteinele conjugate sînt foarte bune Ag. Imunogenitatea polizaharidelor este încă discutată; cei mai mulţi cercetători le consideră doar haptene, ca şi acizii nucleici, lipidele şi unele cristaloide: ele reacţionează ca Ag numai cînd sînt cuplate cu proteine.

Proteinele pure sînt foarte bune Ag[*], substanţe capabile să inducă apariţie de Ac; specificitatea antigenică aparţine structurilor de suprafaţă: pentru a fi „străine" pentru SCIC este suficient ca doar aranjamentul unora (5—10) din aminoacizii de pe suprafaţa moleculelor să posede o configuraţie diferită de aceea a moleculelor recunoscute ca „proprii". Aceste structuri de suprafaţă care imprimă moleculei specificitate antigenică sînt numite *determinanţi antigenici* sau *haptene* („valenţe").

Proteinele conjugate cu glucide, lipide, acizi nucleici şi substanţe chimice simple sînt de asemenea foarte bune antigene; imunogenitatea acestora revine în totalitate componentei proteice, conjugata induce doar specificitate antigenică. *Exemplu*: proteina A conjugată cu glucidul B induce în organism atît anticorpi anti-A cît şi anticorpi anti-B; proteina A neconjugată induce Ac anti-A, ea este un Ag; glucidul B neconjugat cu proteină nu induce apariţie de Ac, el poate reacţiona însă cu Ac induşi de complexul A + B, el este un hapten.

Unele substanţe de origine exogenă, medicamente, substanţe chimice diverse, toxine şi exoenzime microbiene, ajunse în organism se pot adsorbi sau pot reacţiona cu proteine serice sau tisulare, induc transformarea acestora în „*non self*", în autoantigene. Această posibilitate a fost demonstrată experimental prin cuplarea artificială a unor proteine naturale proprii cu grupări chimice străine organismului, acestea devenind capabile de a induce Ac cu specificitate pentru substanţa conjugată.

Polizaharidele pure, după unii cercetători, ar fi în mod excepţional imunogene; ele sînt însă foarte bune haptene, inducînd specificitate antigenică în complex cu proteine (ca în structurile bacteriene). Exemple clasice sînt polizaharidele capsulare pneumococice: inocularea pneumococului capsulat (polizaharid pe suport proteic) induce apariţie de mari cantităţi de Ac antipolizaharidic (1—10 şi chiar 50 mg/ml de ser); în timp ce, injectarea aceluiaşi polizaharid, purificat, induce numai rareori apariţie de Ac şi numai la anumite specii animale (şoarece, om), dar nu şi la iepure; devin însă antigenice şi în organismul iepurelui dacă sînt cuplate cu proteine. Acest comportament duce la ipoteza că şi la celelalte animale (om, şoarece), antigenitatea ar fi asigurată tot de un Ag complet, care ar lua naştere prin cuplare cu proteine, după injectarea polizaharidului. Experienţele actuale cu vaccinuri antipneumococice par să confirme această ipoteză.

Acizii nucleici se comportă ca haptene, determină apariţie de Ac (anti-ADN, anti-ARN) numai în complex cu proteine; în condiţii normale sînt segregate anatomic faţă de SCIC.

Lipidele pure nu sînt imunogene şi numai unele sînt bune haptene: cardiolipinul (folosit în serodiagnosticul sifilisului) şi lipidul din complexul lipo-polizaharid-polipeptid, sau „endotoxina" bacteriilor gram-negativ; complexul natural, cu suport proteic, induce şi anticorpi antilipoidici.

Cristaloidele singure nu sînt imunogene; unele se comportă ca haptene (neoarsfenamina, 2—4 dinitroclorbenzen sulfonat, 2—4-dinitrofenil, cloroprotixen, penicilină, chinidină, aspirină sulfamide etc).

---

[*] Antigenul care induce imunitate este numit şi *imunogen*; antigenul care induce sensibilizare este numit şi *alergen*.

3. ANTIGEN, GREUTATE MOLECULARĂ

Pentru a fi antigenică, substanța trebuie să posede o gr. mol. suficient de mare; cu cît gr. mol. este mai mare, cu atît imunogenitatea este mai crescută.

Aceasta s-ar explica prin faptul că o moleculă, cu cît este mai mare, cu atît mai multe sînt șansele ca structura ei să fie mai complexă și, astfel, să posede și grupări chimice străine pentru SCIC din organismul producător de Ac; totodată, va fi mai greu eliminată din organism fiind asigurat și timpul necesar inițierii răspunsului imunologic. Aminoacizii nu sînt antigenici, au gr. mol. mică și totodată sînt structuri identice (și recunoscute ca proprii) la toate speciile animale.

La structuri proteice, antigenitatea apare în medie la peste 10.000 gr. mol., proteinele globulare fiind mult mai bune Ag decît lanțurile polipeptidice: ovalbumina (gr. mol. 40.000) este un bun Ag; albuminele (70.000) și globulinele serice (150.000—1.000.000), exotoxinele bacteriene (1.200.000) sînt foarte bune Ag, pentru ca hemocianina (pigment respirator al insectelor), virusul mozaicului tutunului cu gr. mol. de ordinul milioanelor să fie cele mai puternice Ag.

Există și excepții, proteine cu gr. mol. mare neantigenice, ca gelatina, ceea ce este explicat prin lipsa de rigiditate a moleculei, *rigiditatea* moleculară fiind o altă condiție a antigenității. Pe de altă parte, a fost pusă în evidență antigenitate și la unele proteine cu gr. mol. mult mai reduse, insulina cu gr. mol. 6.000 și chiar hormonul pancreatic glucagon cu gr. mol. 3.800, ceea ce s-ar explica prin lipsa specificității de specie și prin rigiditatea moleculară.

În ce privește comportarea ca haptene. aceasta aparține și unor substanțe simple cu gr. mol. sub 1.000.

4. CALEA DE PĂTRUNDERE A ANTIGENELOR

Pentru ca Ag să determine producere de Ac, el trebuie să ajungă nemodificat chimic pînă la celulele SCIC.

În mod natural această condiție este realizată în timpul infecțiilor (Ag microbiene fiind eliberate direct în țesuturi și umori: exotoxine, exoenzime, Ag corpusculare eliberate consecutiv bacteriolizei). Unele Ag pot pătrunde prin mucoase, în special prin mucoasa tractusului respirator și digestiv: Ag vegetale (polenuri), unele Ag de origine alimentară, ca și Ag microbiene eliberate de *flora normală* a mucoaselor. Antigenele sînt captate de macrofage direct de pe aceste suprafețe. (Proteinele pure sînt însă foarte sensibile la acțiunea enzimelor digestive, de aceea mai greu pot ajunge nemodificate la celulele SCIC). Dealtfel, această cale este folosită în prezent pentru vaccinări (v. orale).

Ag pot pătrunde de asemenea prin plăgi accidentale și chirurgicale.

În mod artificial, Ag și haptene sînt introduse parenteral prin injectare de vaccinuri și medicamente (intradermic, subcutanat, intramuscular, intraperitoneal, intravenos, intraarterial)*, prin implante și transplante.

---

* **Prescurtări**: i. d., s. c., i. m., i. p., i. v.

5. PERSISTENȚA ÎN ORGANISM

Pentru a induce apariția anticorpilor, Ag trebuie să persiste în organism o perioadă suficientă de timp. Această condiție reiese din faptul că o aceeași cantitate de Ag este mai bună producătoare de Ac dacă este injectată în doze fracționate, decît dacă este injectată dintr-odată și din faptul că, o aceeași substanță este mai antigenică dacă este înglobată în *adjuvant*, decît dacă este injectată ca atare (v. pag. 236).

6. DOZE ANTIGENICE

Doze prea mici ca și doze prea mari de Ag nu permit apariția răspunsului în Ac, ceea ce numim *toleranța imunologică* „la prag jos" și, respectiv, „la prag înalt" :

— toleranța la doze mici de Ag este explicată prin insuficiența stimulului antigenic, (absența contactului eficient cu macrofagul, celula care inițiază răspunsul imunologic) ;

— toleranța la doze mari de Ag apare, probabil, prin două mecanisme : (i) Ag în exces blochează sediile de recunoaștere de pe suprafața limfocitelor făcînd imposibil contactul macrofag-limfocit (necesar predării informației antigenice limfocitului) ; (ii) Ag în exces saturează anticorpii pe măsura eliberării lor în circulație (aceste explicații apar logice, deoarece, toleranța dobîndită prin doze mari de Ag este pasageră ; după o perioadă de „eclipsă" a Ac serici — în care timp are loc eliminarea excesului de Ag din organism — Ac pot fi puși din nou în evidență).

Dozele imunogene se plasează între aceste extreme.

Mărimea dozelor eficiente de Ag variază foarte mult cu tipul de Ag, cu specia animală injectată, modul și calea de administrare ; același răspuns în Ac este obținut cu doze de 10 pînă la 100 de ori mai mici dacă Ag este înglobat în adjuvant și injectat subcutanat, comparativ cu injectarea de Ag ca atare pe cale intravenoasă : de ex., pentru albumine serice, pragul minim pentru obținerea răspunsului în Ac la iepure este în medie de 100 µg/Kg-corp ; pentru același Ag, înglobat în adjuvant și astfel ușor captat de macrofag, doza scade la 1—10 µg/Kg-corp.

Cantitatea minimă de Ac decelabili în ser variază foarte mult cu metoda Ag-Ac folosită în acest scop și este în jur de 0,01 µg/ml de ser; *cantitatea maximă de Ac*, indiferent de doza de Ag, injectată și ritm, în mod excepțional depășește 10 µg/ml de ser.

7. RITMUL ADMINISTRĂRII ANTIGENELOR

Repetarea dozelor de Ag permite obținerea unui răspuns imunologic mai important ; aceeași cantitate de Ag administrată în doze fracționate dă un răspuns în Ac superior administrării în doză unică ; repetarea unei doze mici de Ag, chiar la intervale de ani de zile de la administrarea primei doze, determină apariția unui nivel al Ac mai ridicat decît după prima administrare.

Mai mult, *într-un organism în care a fost obținut un răspuns în Ac ca urmare a injectării unui Ag conjugat, reinocularea conjugatului, singur, determină creșterea Ac anti-substanța conjugată.* Așa se explică, atît răspunsul tot mai puternic la haptene cu care organismul vine frecvent în contact, în mod ocult, ca în cazul ,,endotoxinelor'' bacteriilor gram-negativ, prezente în intestinul normal și pe alte mucoase, cît și manifestările de toleranță la ,,endotoxină'' observate uneori.

Astfel de studii privind componența antigenică, doze și ritm de administrare, sînt impuse de practica profilaxiei specifice antiinfecțioase, prin vaccinuri. (În stadiu experimental se află studiul *antigenelor tumorale* în scopul stimulării imunității-antitumoră și studiul *antigenelor de histocompatibilitate* în scopul obținerii toleranței imunologice față de transplant).

B. SPECIFICITATEA ANTIGENELOR

Specificitatea este proprietatea prin care sînt definite toate antigenele și caracteristica tuturor fenomenelor pe care acestea le induc. Specificitatea este principala proprietate a antigenelor, ea rezidă în:

particularitățile de structură chimică a moleculei de Ag și

capacitatea de cuplare numai cu anticorpul căruia i-a indus apariția.

Variația structurii antigenice în natură este infinită, la fel ca și posibilitățile de variație a moleculei proteice și a proteinelor conjugate, la fel de variabilă fiind deci și specificitatea acestor Ag.

Date importante care demonstrează relația între variațiile de structură chimică și specificitatea antigenică au fost obținute prin studiul antigenelor conjugate și alterarea antigenelor.

(i) *Conjugarea unui Ag-proteic cu un hapten* (polizaharidic de exemplu) modifică specificitatea antigenică a proteinei sau adaugă o nouă specificitate complexului antigenic. Orice înlocuire a haptenului (ca de exemplu, conjugarea unei proteine cu dextro-, cu levo- sau mezoizomerii acidului tartric) determină producere de Ac specifici, corespunzători fiecăruia din cele trei haptene conjugate (fig. 58).

	Acid L-tartric	Acid D-tartric	Acid meso-tartric
	COOH | HOCH | HCOH | COOH	COOH | HCOH | HOCH | COOH	COOH | HCOH | HCOH | COOH
Precipitare cu ser imun anti:			
acid L-tartric	++±*	0	±
acid D-tartric	0	++±	±
acid meso-tartric	±	0	+++

* ±. ±. ++± +++ = grade de precipitare; O = absența precipitării

Fig. 58: Specificitate antigenică (după *Landsteiner*).

(ii) *Alterarea antigenelor* prin căldură, prin agitare, substanțe chimice sau enzime (scindare enzimatică) duce de asemenea la modificarea sau pierderea specificității antigenice. Există însă și agenți fizici (căldură moderată), ca și unii agenți chimici moderați (formolul în anumite concentrații), care pot modifica unele proprietăți biologice ale Ag fără a-i modifica specificitatea antigenică și imunogenitatea: de exemplu, unele microorganisme omorîte prin căldură sau fenol rămîn bune vaccinuri (pierzîndu-și infecțiozitatea); exotoxinele formolate (4‰) rămîn valoroase vaccinuri (imunogene cu specificitate conservată) pierzîndu-și însă toxicitatea *(anatoxine)*.

Atît datele obținute prin conjugarea cît și prin alterarea antigenelor au demonstrat că, structurile care imprimă specificitate antigenică, pusă în evidență prin specificitatea de reacție cu anticorpul a cărui apariție a indus-o, sînt structuri de suprafață, denumite „determinanți antigenici", „haptene", „sedii de cuplare" sau „valențe". În consecință, specificitatea antigenică nu rezidă atît în structura primară a proteinelor ci, mai ales, în structura lor terțiară și cuaternară.

Multivalența antigenelor. Un Ag poate fi multivalent, ceea ce înseamnă că pe suprafața lui un același determinant antigenic *se repetă* ca structură de mai multe ori, putînd cupla mai multe molecule-anticorp; de exemplu, molecula de:

ovalbumină are 5 sedii de cuplare cu Ac (sau valențe);
serumalbumina are 6 sedii de cuplare (sau valențe);
toxina difterică are 8 sedii de cuplare (sau valențe);
tireoglobulina are 40 sedii de cuplare (sau valențe);
hemocianina are 231 sedii de cuplare (sau valențe).

Multispecificitatea antigenelor. Ag pot fi și multispecifice: pe aceeași moleculă pot fi prezenți, concomitent, determinanți antigenici cu specificități diferite, imprimînd moleculei multiple specificități antigenice (v. pag. 262, Proprietăți antigenice ale Ig).

Antigene „tip Forssman". Ag „tip Forssman" sau Ag *comune*, sau ubiquitare, este numele generic dat mai multor antigene identice (sau aproape identice) prezente în celule și umori la variate specii animale, microbi și chiar plante. Din punct de vedere chimic, par să fie mucopolizaharide conjugate cu lipide, deci haptene. Mai bine studiat este Ag pus în evidență de *Forssman*, prezent în globulele roșii ale multor specii animale (cal, oaie, cîine, pisică, șoarece, găină), la unele bacterii (tulpini de bacili dizenterici, *N. catarrhalis*, *Cl. perfringens* etc.).

Cunoașterea existenței acestor antigene „comune" permite înțelegerea multor fenomene imunologice, care altfel apar ca „aberații". De exemplu, speciile animale care posedă astfel de Ag comune în structurile proprii, nu produc Ac împotriva acelorași Ag de proveniență microbiană; sau, un organism care a produs Ac față de o bacterie care posedă un anumit hapten, va da un răspuns imunologic de tip secundar la întîlnirea cu o altă bacterie care îl posedă în comun etc.

C. ADJUVANȚI ȘI POTENȚIATORI NESPECIFICI AI RĂSPUNSULUI IMUNOLOGIC

1. ADJUVANȚI

Adjuvanții nespecifici ai imunității sînt substanțe care, injectate, împreună cu antigenul-țintă, determină intensificarea răspunsului imun umoral și celular față de acesta.* Ei fac ca Ag slabe sau mici cantități de Ag să devină mai imunogene permițînd obținerea aceluiași efect cu un număr mai mic de doze (ceea ce este practic și economic); ei sînt folosiți de mult timp în prepararea serurilor hiperimune terapeutice și de diagnostic, pe animal, și în vaccinări la animal și la om.

Acțiune adjuvantă au demonstrat:

a) **produse anorganice**, ca geluri de hidroxid, fosfat sau oxid de aluminiu, fosfat de calciu, uleiuri minerale, substanțe pe care pot fi adsorbite sau în care pot fi înglobate Ag-solubile sau corpusculare;

b) **produse biologice**, ca suspensii microbiene (specii *Mycobacterium*, *Corynebacterium parvum*, *B. pertussis*, bacili gram-negativ producători de „endotoxine"), lanolină, ulei de arahide;

c) **preparate complexe ca adjuvant Freund**, complet și incomplet**;

d) **produse sintetice** ca duplexuri de poliribonucleotide: *poli I:C* (poliriboinozinic — poliribocitidilic), *poli A* (poliriboadenilic), *poli U* (poliribouridilic), *pyran* (polianion sintetic).

Explicația intensificării răspunsului imun rezidă în faptul că înglobarea Ag în astfel de substanțe permite:

(i) formarea de *agregate insolubile* și, astfel, foarte bune condiții de obținere a răspunsului imun;

(ii) favorizează formarea granulomului inflamator prin recrutare și aport mare de CIC *in situ* și stimularea proliferării (deci, contact eficient cu celulele capabile să inițieze *răspuns* imunologic);

(iii) asigură eliberarea lentă a antigenului și îi prelungește astfel timpul de persistență în organism (condiție majoră pentru elaborarea unui bun răspuns imunologic);

(iv) favorizează captarea Ag de către macrofage.

Adjuvanții în care intră și suspensii bacteriene s-au demonstrat valoroși în prepararea serurilor hiperimune pe animal. Utilizarea lor la om ridică problema apariției de fenomene imunologice nedorite, *hipersensibilizări*, bine demonstrate experimental: datorită ubiquității lor, organismul vine frecvent în contact cu bacterii gram-negativ producătoare de „endotoxine", specii *Corynebacterium*, *Mycobacterium*.

---

* Ag— țintă: Ag față de care se urmărește obținerea răspunsului imun.

** **Adjuvant Freund complet**: soluție sau suspensie apoasă de Ag emulsionată în *ulei mineral* în prezența *lanolinei* (care face miscibilă apa cu uleiul), la care se adaugă suspensie omorîtă de *Mycobacterium bovis* (tulpina *Calmette-Guérin*); în **adjuvantul Freund incomplet** lipsesc corpii microbieni.

Aceste inconveniente fac superiori adjuvanții minerali și reprezintă sensul încercărilor de a obține adjuvanți sintetici, substanțe cu care SCIC nu a avut ocazia să se întîlnească în prealabil. Introducerea duplexurilor de poliribonucleotide țintește, în plus, favorizarea prelucrării eficiente a Ag în macrofag.

2. POTENȚAREA NESPECIFICĂ A IMC *
fără folosirea Ag-țintă

Potențare a IMC se poate obține și fără înglobarea antigenului-țintă în substanța potențiatoare; această stimulare apare necesară în boli în care lipsește antigenul-vaccinant: (i) stimularea apărării în lepră cu BCG; lepra fiind dată de o bacterie necultivabilă, (ii) stimularea apărării antitumorale (deoarece purificarea acestor Ag nu este rezolvată); (iii) stimularea apărării față de numeroșii microbi care pot da infecții și pentru care nu există vaccinuri.

Este demonstrat că stimularea proliferării celulelor implicate în IMC (limfocite-T, macrofage), indiferent care este stimulul antigenic injectat, are ca rezultat intensificarea capacității de rejet și față de alte celule — Ag; experiențe ca cele ale lui *Mackaness*, de exemplu, arată că macrofagul activat prin vaccinare antituberculoasă devine citolitic, nu numai față de bacilul Koch ci și față de alte BFI** *(Listeria, Brucella, S. typhi)* injectate concomitent (fig. 59).

Infecție primară cu:	BK			Listeria		
Infecție de probă cu:	BK	Listeria	BK + Listeria	BK	Listeria	BK + Listeria
Rezultate:	rezistență	infecție	rezistență	infecție	rezistență	rezistență

BK = bacil Koch

Fig. 59: Stimularea nespecifică a IMC; reprezentare a experiențelor lui *Mackaness*

În acest scop se folosesc aceleași substanțe utilizate și ca adjuvanți propriu-ziși.

D. STRUCTURA ANTIGENICĂ A BACTERIILOR

Date privind structura antigenică a bacteriilor se obțin prin (i) studii *imunochimice* (separare de fracțiuni și studiul valorii lor imunogene, cu definirea ca hapten sau Ag complet) și (ii) *serologice* (bazate pe seruri imune preparate pe iepure, cu punerea în evidență a reacțiilor încrucișate între diferite bacterii, identificarea fracțiunilor comune) în reacții de aglutinare, precipitare, fixarea complementului (folosind tehnica absorbției anticorpilor).

---

* IMC: imunitate mediată de celule.
** BFI: bacterii facultativ intracelulare

Prin structura lor complexă, bacteriile reprezintă mozaicuri de Ag şi haptene; fiecare Ag şi hapten cuplat cu proteină determină în organism apariţia de Ac care îi sînt specifici.

Din punct de vedere practic, este importantă cunoaşterea *antigenelor de specificitate* şi a *antigenelor de patogenitate.*

1. ANTIGENE ŞI HAPTENE DE SPECIFICITATE

Microorganismele sînt individualizate prin structura antigenică, în baza căreia pot fi identificate ca gen, specie, tip antigenic (serotip).

Ag cu specificitate de gen*; sînt fracţiuni comune speciilor care alcătuiesc un gen; ele diferenţiază genurile în sînul unei familii *(Enterobacteriaceae)*; unele genuri care conţin numeroase specii, pot fi împărţite pe bază de Ag comune în grupe antigenice *(Salmonella).*

Ag cu specificitate de specie, caracterizează specia şi diferenţiază speciile în cadrul genului *(Streptococcus;* cap. XX*).*

Ag cu specificitate de tip, împart specia în serotipuri *(Streptococcus pneumoniae* este împărţită în 80 de tipuri datorită structurii diferite a polizaharizilor capsulari).

Identificarea genului, speciei sau tipului antigenic al unei bacterii se face cu seruri imune; metoda se foloseşte atît pentru identificarea tulpinii izolată din produsul patologic în scopul diagnosticului etiologic la bolnav, cît şi în scopuri epidemiologice.

2. ANTIGENE CA FACTORI DE PATOGENITATE

Se subclasifică în antigene de virulenţă şi toxine; sînt antigene cu valoare vaccinantă (imunizantă), *singurele* care permit obţinerea de vaccinuri valoroase; anticorpii respectivi au valoare protectoare.

Pentru unele bacterii antigenul sau antigenele de specificitate pot fi totodată şi antigene de patogenitate, exemple: pentru *Clostridium tetani*, exotoxina este atît Ag de specificitate (de identificare a speciei), cît şi Ag de patogenitate (folosit pentru prepararea vaccinului, anatoxina tetanică); polizaharidul pneumococic este atît Ag de specificitate, cît şi factor de virulenţă.

În concluzie, *caracterizarea antigenică a unei bacterii* se face pe baza celui sau celor mai importante *antigene de specificitate şi de patogenitate.*

a) **Antigene de structură sau celulare** (corpusculare). Antigenele de structură sînt denumite cel mai adesea după structura anatomică căreia aparţin:

(i) *Antigene ciliare* sau „H" sînt proteine foarte antigenice; nu sînt vaccinante; posedă însă o înaltă specificitate de specie, de tip (împart specia în tipuri antigenice); o aceeaşi bacterie poate avea unul sau mai multe antigene ciliare (v. pag. 406).

---

* Se referă atît la antigene, cît şi la haptene.

(ii) *Antigene fimbriale* sînt proteine foarte variabile antigenic în sînul aceleiași specii.

(iii) *Antigene capsulare*; unele structuri capsulare sînt haptene, cel mai adesea polizaharide; sînt foarte importanți factori de virulență pentru speciile posesoare și au *mare specificitate* de specie și de tip.

De exemplu: polizaharidul capsular, *singurul factor de patogenitate* al pneumococului, este și cel mai important în obținerea imunității; nefiind suficient de antigenic ca substanța pură (hapten), o imunitate bună se obține cu vaccin corpuscular în care polizaharidul este legat de proteine; variază foarte mult ca *specificitate*, el împarte specia în 80 de tipuri antigenice; un vaccin anti-pneumococic ar trebui, teoretic, să conțină toate cele 80 de tipuri existente. În practică, vaccinul antipneumococic se prepară din tipurile cele mai circulante în zona geografică în care va fi folosit.

Acest principiu este valabil și pentru alte bacterii.

(iv) *Antigenele de perete* corespund *stratului structurilor speciale*, superficial, al peretelui bacterian, fiind foarte variabile de la specie la specie; sînt prezente la tulpini „S" *(smooth)*; (v. cap. II).

Caracteristică este structura lipopolizaharidică proteică* de perete a *bacililor gram-negativ*; *(pusă pentru prima dată în evidență* de *A. Boivin, Lidia* și *Ion Mesrobeanu* și numit adesea antigen Boivin-Mesrobeanu).

(v) *Antigenele legate de structuri mai profunde* sînt în general lipsite de specificitate de specie și de tip; unele posedă specificitate de grup, gen. Sînt insuficient studiate; numite în general antigene „R" deoarece sînt prezente și la tulpinile „R" *(rough)*, degradate antigenic (care au pierdut antigenele de suprafață).

Antigenele legate de structurile protoplastului sînt și mai puțin studiate.

b) **Antigene nestructurale, solubile, exotoxine și exoenzime.** Antigenele solubile, eliberate extracelular, sînt proteine, în general puternic antigenice și foarte specifice, diferențiate în *exotoxine* (tetanică, difterică, botulinică, eritrotoxina streptococică etc., cu mare valoare vaccinantă, ușor transformate în anatoxine, vaccinuri) și *exoenzime* (hemolizine, fibrinolizine, hialuronidaze, lecitinaze, cu specificitate de specie și tipuri). Injectate în organism determină apariția de anticorpi neutralizanți.

(În partea IV a manualului, care cuprinde speciile patogene, un loc rezervat îl are descrierea antigenelor de specificitate și de patogenitate, datorită importanței lor pentru înțelegerea diagnosticului etiologic, a patogenității bacteriei și a profilaxiei specifice). (Vezi și cap. XLVI).

BIBLIOGRAFIE

1. HILL A. W. et all.: The stimulation by endotoxin of the nonspecific resistance. *Brit. J. Exp. Path.*, 55/2, 194—202, 1974.
2. HIN J. J., AMIEL J. L.: Isolation of immunological adjuvant component from B.C.G. cells. *Rev. europ. études clin. et biol.*, *XVI*, 55—58, 1971.

---

* Glucidolipidopolipeptidică.

3. IVAN L., GARVEY J. S., CAMPBELL D. H.: Molecular forms of antigen in the circulation following immunization. *Immunochemistry*, 7, 7, 601—618, 1970.

4. KADIS S., WEINBAUM G., AJL S. J. (Eds.): *Microbial toxins*. vol. V. Bacterial endotoxins. Acad. Press, NY—London, 1971.

5. KATZ D. H., UNANUE R.: Critical role of determinant presentation in the induction of specific responses in immuno-competent lymphocytes. *J. Exp. Med.*, *137*, 4, 967—990, 1973.

6. MARTIN R., RELYVELD E. H., RAYNAUD M., DOMAS J. P., HENECQ E.: Pouvoir immunisant et tolerance par l'organisme humain des vaccins adsorbé sur phosphate de calcium. *Presse Méd.*, *77*, 341—344, 1967.

7. MONIER J. C., SEPETJIAN M.: Auto-immunité: les faits, les mécanismes, les hypothèses. *Lyon Méd.*, 2, p. 99, 1974.

8. SCHLASSMAN S. F.: Antigen recognition: The specificity of T cells involved in the cellular immune response. *Transplantation Rev.* 10, 97—111, 1972.

9. WALKER A. W., ISSELBACHER K. J., BLOCH K. J.: Intestinal uptake of macromolecules. Effect of oral immunisation. *Science*, 177, 608—610, 1972.

10. WALKER A. W. et all.: Intestinal uptake of macromolecules. II. Effect of parenteral immunization. *J. Immunol.*, *111*, 1, 221—226, 1973.

XVI. SISTEMUL CELULAR IMUNOCOMPETENT (SCIC), IMUNOGENEZA

> **„Dacă este un adevăr că studiul infecţiei nu poate înainta fără studiul imunităţii, este de asemenea adevărat că studiul imunităţii nu poate progresa fără cel al infecţiei, deoarece maturarea sistemului imun este dependentă de expunerea gazdei la variaţi microbi"** *(J. Infect. Dis.,* **134**, **5**, **510**, **1976).**

Răspunsurile specifice, atît (1) apariţia anticorpilor *(răspuns imunologic)*, cît şi (2) inhibarea specifică a apariţiei lor *(toleranţa imunologică)*, au loc ca urmare a întîlnirii celulelor imunocompetente (CIC) cu antigene.

A. CELULE CU COMPETENŢĂ IMUNOLOGICĂ

Competenţa sau capacitatea imunologică potenţială aparţine anumitor celule ale sistemului reticulo-histiocitar, *macrofage, limfocite* şi *plasmocite* (incluzînd întreaga serie celulară de la limfoblast şi plasmoblast pînă la limfocitul mic şi plasmocitul matur); totalitatea acestor celule alcătuiesc SCIC:

Macrofagul (M) este celula care, captînd şi prelucrînd Ag *iniţiază* modificările celulare care conduc la apariţia anticorpilor umorali şi celulari; el reprezintă totodată unul din *efectorii* finali ai fenomenelor imunologice mediate de celule (IMC): fenomene inflamatorii imunologic specificate. (După cum s-a văzut deja, în inflamaţia şi fagocitoza nespecifică care are loc în organism neimunizat, M. intervine în a doua fază, după PN, fază care se suprapune cu faza iniţială a etapei imunologice, prelucrarea Ag în M.).

Limfocitul T (LT) este celula care se diferenţiază în timus, timodependentă, şi proliferează sub influenţa Ag devenind celulă cu funcţie anticorp, numită şi anticorp-celular sau *limfocit specific sensibilizat* (L. s. s.).

Plasmocitul (P) se diferenţiază din limfocit B (timo-independent) şi proliferează ca urmare a contactului cu Ag, devenind celulă secretorie de imunoglobuline, *anticorpi umorali*

SCIC este reprezentat deci de celulele care suferă transformări şi proliferări sub influenţa Ag devenind celule imunoefectoare.

B. ORIGINEA ŞI MATURAREA CELULELOR IMUNOCOMPETENTE

1. GENEZA SCIC

Aceasta este etapa constituţională, care are loc independent de prezenţa Ag *non-self* în organism (fig. 60).

CIC îşi au originea în *organele limfoide embrionare* reprezentate de celula *matcă* („stem''), *celula de origine* din măduva osoasă.

(La om, primele semne de limfopoieză apar *in utero* cam în luna a 3-a a gestaţiei, în măduva osoasă; celulele matcă sînt caracterizate prin multipotenţă, capacitate de diferenţiere spre multiple forme mature: monocite, granulocite, megacariocite, eritrocite).

În a doua jumătate a embriogenezei, celule *matcă* migrează spre *organele limfoide primare (centrale)*, unde vor deveni limfocite. Organele limfoide primare sînt reprezentate la păsări de timus şi de bursa lui Fabricius, iar la mamifere de *timus* şi de *„echivalenţii bursei''* (probabil, ţesut limfoid intestinal, hepatic, apendice, tonsile).

În timus, celula *matcă* se diferenţiază în **limfocite-T** iar la nivelul echivalenţilor bursei, se diferenţiază în **limfocite-B**. În această etapă, contactul cu Ag-proprii *(self)* duce la „anularea'' clonelor capabile să le recunoască, de aceea antigenele proprii sînt natural „tolerate''.

2. MATURAREA SCIC INDUSĂ DE ANTIGENE NON-SELF

Maturarea SCIC este dependentă de contactul cu antigene *non-self*, începe în „perioada perinatală'' (înainte sau după naştere) şi se traduce prin popularea cu limfocite a organelor limfoide periferice care vor deveni capabile să dea răspunsuri imunologice (apariţia de Ac).

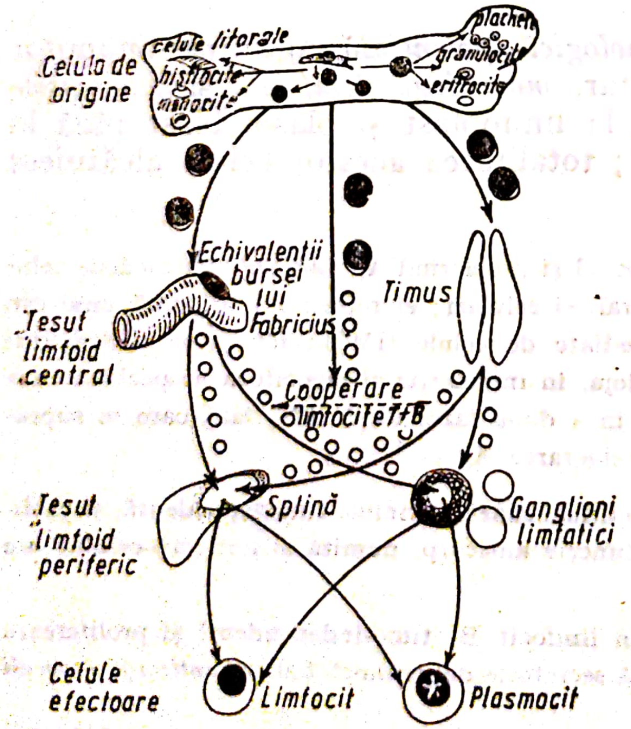

Celula de origine
celule litorale
histiocite
monocite
plachete
granulocite
eritrocite
Echivalenţii bursei lui Fabricius
Timus
Ţesut limfoid central
Cooperare limfocite T+B
Splină
Ganglioni limfatici
Ţesut limfoid periferic
Celule efectoare
Limfocit
Plasmocit

Fig. 60: Originea şi diferenţierea celulelor care alcătuiesc SCIC.

În mod normal, în viaţa intrauterină, noul organism se află la adăpost de contactul cu Ag *non-self* şi organele limfoide periferice rămîn de tip embrionar (lipsite de centri germinativi şi de limfoplasmocite), iar în plasmă lipsesc imunoglobulinele *proprii*. În lipsa oricărui stimul antigenic, această situaţie persistă pînă la naştere. Experienţa antigenică masivă a SCIC începe la naştere; odată cu trecerea în viaţa extrauterină organismul este confruntat imediat cu numeroase substanţe străine antigenice, apte de a depăşi mucoasele, sau de a fi captate de *macrofage* de pe mucoase. Asemenea Ag sînt eliberate de flora normală, cu care mucoasele şi tegumentele fătului sînt populate încă în timpul delivrării (cap. V, B, 7), de antigenele laptelui de mamă etc. (tabel 29).

În mod accidental, contact eficient cu Ag *non-self* poate avea loc la sfîrşitul vieţii intrauterine: fie contact cu izoantigene materne ca urmare a unor defecte ale filtrului placentar, fie Ag microbiene în infecţii ale mamei date de microorganisme care depăşesc acest filtru (*Treponema pallidum, Listeria monocitogenes, Toxoplasma, virusuri*).

Contactul cu Ag, fie că are loc cu puţin timp înainte de naştere sau la naştere (perinatal), induce activarea CIC din timus şi ,,echivalenţii bursei'', şi se traduce prin eliberare de limfocite şi colonizarea treptată a organelor limfoide periferice:

Limfocitele-B, în afară de măduva osoasă unde constituie o sursă aproape pură, populează foliculii şi medulara ganglionilor, nodulii formaţiilor limfoide intestinale, arii perifoliculare şi pulpa roşie a splinei, aşa-numitele arii *timus-independente* (burso-dependente): 70% din limfocitele splenice şi 10% din cele ganglionare sînt limfocite B;

Limfocitele-T părăsesc timusul prin limfaticele eferente şi, diseminate prin sînge, populează zona corticală a ganglionilor limfatici, ariile periarteriolare ale pulpei albe a splinei şi spaţiile internodulare din formaţiile limfoide din intestin, numite arii *timus-dependente*: 100% din limfocitele din timus, 90% din corticala ganglionilor şi 30% din splină sînt limfocite-T.

Consecinţa interacţiunii primare a CIC cu Ag este aceea că, prin transformări şi proliferări secvenţiale, iau naştere două sisteme de celule imunoformatoare (efectoare):

sistemul ,,bursal'', timus-independent, reprezentat de *limfocitele-B* capabile să se diferenţieze în *plasmocite*, celule secretoare de imunoglobuline, responsabile de *fenomenele imunologice de tip umoral sau imediat*, şi

sistemul timal, timus-dependent, reprezentat de limfocitele-T, responsabile de *fenomenele imunologice mediate de celule* sau *de tip întîrziat*.

Ca urmare, în organele limfoide periferice şi în sînge există atît limfocite-B cît şi -T.

Rolul organelor limfoide centrale ca generatoare a capacităţii imunogene în organele limfoide periferice este demonstrat prin experienţe ca timectomia, iradierea, tratamente cu seruri antilimfocitare, hipoplazii congenitale ale timusului:

(i) Îndepărtarea timusului (sau iradiere) imediat după naştere are ca urmare atrofia organelor limfoide periferice, număr redus de limfocite-T circulante, incapacitatea organismului de a da răspunsuri imune de tip întîrziat, mortalitatea precoce crescută prin infecţii care beneficiază numai de IMC (timus dependentă).

(ii) Rolul timusului în dezvoltarea capacităţii imunogene este dedus şi din observaţia *aplaziei* (şoarece-,,nud'') şi *hipoplaziei congenitale* la şoarece, boli care se însoţesc de lipsa sau atrofia ariilor limfoide timodependente, limfopenie, incapacitatea de a da răspunsuri imunologice mediate de celule (IMC).

(iii) Persistenţa totală sau parţială a capacităţii imunologice de tip umoral, care se observă în astfel de cazuri, demonstrează rolul echivalenţilor bursei lui Fabricius ca generatori ai *limfo-*

citelor-B (plasmocite) timus-independente, responsabile de fenomenele imunologice mediate de Ig (imunoglobuline).

Rolul antigenelor în maturarea organelor limfoide periferice este demonstrat prin experiențe pe animale *germ-free* :

Limfopoieza este inexistentă sau redusă înainte de naștere, ca și la animalele *germ-free* care (deși nu sînt total *antigen-free*) lasă să se presupună că în absența oricărui stimul antigenic, organele limfoide secundare ar rămîne structuri vestigiale, cu morfologie de tip embrionar (v. cap. V, B, 7).

Rolul organelor limfoide centrale se exercită în special la începutul vieții extrauterine (a primelor contacte cu antigene), dar continuă toată viața, la necesitate. Acest aspect este dedus din experiențe care demonstrează că timusul este indispensabil pentru restaurarea funcțiilor imunitare după iradiere subletală și administrare de produse antilimfocitare. Refacerea capacității imunitare la șoarecii iradiați subletal se obține însă numai prin transplant concomitent de timus și de măduvă osoasă (iradierea a alterat și sistemul bursal).

Durata maturării SCIC este în medie 1—2 ani și se traduce prin nivel de tip matur al imunoglobulinelor (Ig) și al populației de limfocite-T și -B ; **este în raport cu experiența antigenică a fiecărui individ,** frecvența stimulilor antigenici care ajung la CIC. **Maturarea SCIC poate fi eficient stimulată prin vaccinări** ; în adevăr, „calendarul vaccinărilor'' la copil începe din primele zile după naștere.

În conluzie, (i) *dotarea cu un SCIC este o proprietate genetică,* (ii) intrarea în funcție a acestor celule, *maturarea SCIC, este stimulată de pătrunderea antigenelor, ontogenetic stabilită,* în funcție de experiența antigenică a fiecărui organism ; imunitatea este dobîndită.

C. MANIFESTĂRI FUNDAMENTALE ALE SCIC

Manifestările fundamentale ale imunocompetenței sînt *recunoașterea non-self*ului, *specificitatea răspunsului* și *memoria non-self*ului, avînd ca urmare *eliminarea* din organism a substanțelor (solubile sau celulare) nerecunoscute ca *self* (fig. 61).

Recunoașterea este capacitatea celulelor acestui sistem de a diferenția Ag *self* de Ag *non-self.* Mecanismul recunoașterii nu este încă bine înțeles, (v. pag 227) dar, datorită lui, SCIC tolerează antigenele *self,* în sensul că nu formează anticorpi față de ele, ceea ce numim *toleranță imunologică naturală,* în timp ce inițiază răspuns în anticorpi față de antigenele *non-self* cu toate consecințele prezenței lor în organism, ceea ce numim *răspuns imunologic* ; am văzut deja că *non-self* pot fi pentru SCIC și unele antigene proprii organismului din care face parte (tabel 29.)

1. TOLERANȚA IMUNOLOGICĂ

a) **Toleranță imunologică naturală** este numită incapacitatea CIC de a produce Ac față de majoritatea Ag din propriul organism.

Fiecare organism ar fi genetic dotat cu un SCIC cu potențial maxim de recunoaștere a antigenelor (a ,,tuturor'' Ag, atît endo- cît și exo-Ag) : fie cîte o celulă (clonă) pentru fiecare Ag (conform teoriei selecției clonale celulare), fie o celulă dotată cu gene ce codifică sinteze de numeroși Ac, capabile deci să recunoască numeroase Ag (conform teoriei selecției subcelulare). Oricare este teoria, anularea clonelor sau a genelor, fenomenul are loc în perioada de geneză a SCIC datorită contactului direct și continuu a acestor celule, în stadiu de diferențiere, cu antigenele pe care le pot recunoaște. În organism rămîn să se dezvolte numai limfocitele care *nu* au luat contact în perioada de maturare cu antigenele pe care le pot recunoaște.

Ca urmare, SCIC nu recunoaște ca proprii Ag aparținînd organelor de care este segregat anatomic, Ag care apar în organism *după* perioada lui de geneză și maturare (tabel 29) și nici Ag exogene.

Aceste teorii privind *anularea clonelor* sînt confirmate de descoperirea unor fenomene de *toleranță naturală la antigene exogene*, capabile de înmulțire și persistență în organism străin din prima perioadă a embriogenezei SCIC (v. subcap. următor).

b) **Toleranță imunologică față de exoantigene dobîndită înainte de naștere** a fost observată prima dată de *Owen*, 1945, la viței dizigoți (cu aceeași circulație placentară) : fiecare din gemeni ,,tolerează'' hematii de alt izogrup antigenic (care se înmulțesc în același ritm cu propriile hematii și persistă continuu în organism).

O altă observație este *toleranța imunologică la virusul choriomeningitei limfocitare* la șoareci persistent infectați din prima perioadă embrionară (cu virus care nu omoară embrionul).

În ambele cazuri este vorba de Ag prezente în organism în mod continuu, din perioada de formare a SCIC, și care anulează astfel dezvoltarea clonelor respective de recunoaștere.

În astfel de condiții, antigene exogene sînt tratate ca Ag-*self*.

c) **Toleranță imunologică față de exoantigene dobîndită după naștere.** Folosind antigene solubile, o toleranță imunologică temporară a putut fi indusă experimental în condiții cantitative care mimează condițiile de instalare a toleranței naturale : *Felton* (1930) a indus toleranță* la șoareci adulți inoculați cu cantități mari de polizaharid pneumococic ; ulterior, toleranța a fost indusă și la proteine. Instalarea toleranței la astfel de Ag este în raport direct cu cantitatea injectată și numărul de CIC capabile de recunoaștere. *Mecanisme* : cu cît cantitatea de Ag este mai mare, cu atît există posibilitatea ca Ag să ia contact direct cu toate limfocitele dotate cu capacitatea de a-l recunoaște ; absorbit pe suprafața celulei, Ag interferează posibilitatea contactului macrofag-limfocit**, indispensabil pentru inducerea răspunsului în anticorpi (v. cap.

---

* Anularea răspunsului în Ac.

** Aceste experimente ne obligă să acceptăm necesitatea contactului indirect al limfocitului cu antigenul, prin intermediul macrofagului, pentru a obține răspuns imunologic de tip primar.

următor) ; ca urmare, toleranță dobîndită se obține mai ușor la nou-născut la care numărul de CIC este redus deoarece SCIC nu este încă maturat. Acest fenomen a fost numit și ,,paralizie imunologică''.

Durata toleranței dobîndite este în raport direct cu durata persistenței Ag în organism în cantități mari; pentru Ag incapabile de înmulțire (proteine, haptene polizaharidice), această condiție este asigurată de mărimea și repetarea dozei de Ag (injectare la intervale regulate).

2. RĂSPUNSUL IMUNOLOGIC ȘI RESPINGEREA ANTIGENULUI NON-SELF

Răspunsul în Ac și ca urmare rejetul antigenelor *non-self* apare la doze moderate de Ag (spre deosebire de imunotoleranța care apare la doze foarte mari).

Prezența anticorpilor induce fenomene de respingere a tuturor antigenelor *non-self*, exoantigene sau autoantigene, fie că sînt vătămătoare, fie că prezența lor este utilă în organism :

a) **Fenomenele de respingere a antigenelor vătămătoare**, ca microbi patogeni și celule canceroase, sînt numite fenomene de **imunitate,** respectiv *imunitate antiinfecțioasă* și *imunitate antitumorală* ;

b) **Fenomenele de respingere a antigenelor utile organismului** sînt patologice și alcătuiesc importantele capitole de **imunopatologie** : *rejetul homotransplantelor, transfuziile incompatibile, bolile de autoagresiune* (prin autoanticorpi), *boli de sensibilizare la heteroantigene* (proteine alimentare, medicamente).

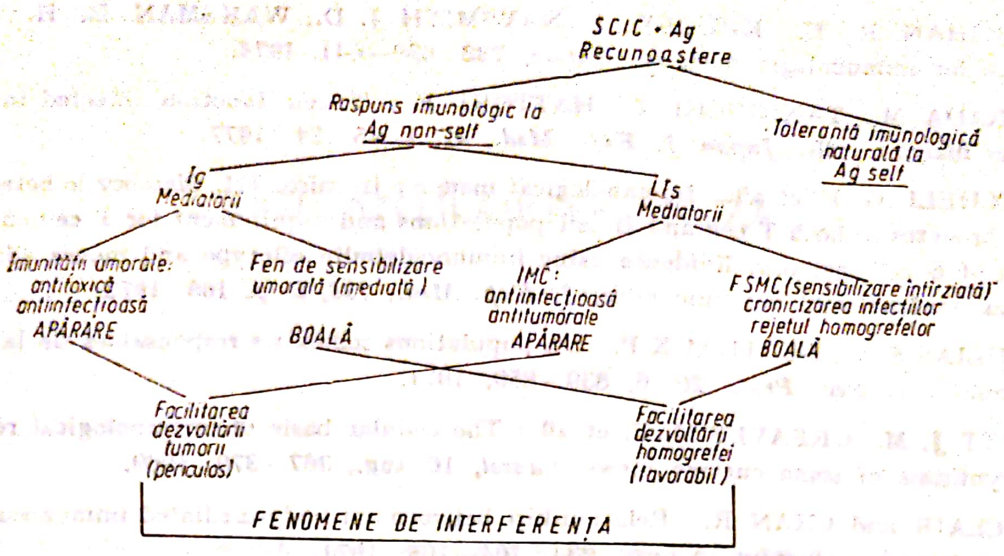
Mai mult, fenomenele de eliminare a antigenelor vătămătoare (microbi, toxine, veninuri) au loc uneori în condiții cantitative care induc modificări patologice în organism, asemănătoare fenomenelor de sensibilizare (la alte heteroantigene) și reprezintă ,,*fenomenele de alterare secundară*'' care pot complica sau succed infecțiilor.

c) **Fenomene de deviere a răspunsului imunologic.** În determinarea fenomenelor de respingere a *non-self*ului, Ac umorali (imunoglobulinele) și Ac celulari (limfocitele sensibilizate) acționează cel mai adesea *sinergic*, potențîndu-se reciproc, intensificînd fenomene de imunitate sau fenomene imunopatologice.

Studiile privind *imunologia rejetului de transplant* și încercările de inducere a *imunității antitumorale* au pus în evidență și fenomene de *interferare* a reacțiilor produse de ,,celulele cu funcție anticorp'' (LSS)* prin prezența imunoglobulinelor. Astfel de interferări modifică (deviază) fenomene imunologice : imunoglobulinele blochează determinanții antigenici celulari și *interferează* contactul eficient cu Lss facilitînd dezvoltarea celulei-țintă : cînd imunitatea mediată de celule (IMC) este singura eficientă, cazul eliminării celulelor tumorale, această interferență duce la un fenomen de deviere care se traduce prin *facilitarea dezvoltării tumorii* (în loc de eliminare).

---

* LSS : limfocit specific sensibilizat sau limfocit T-memorie.


SCIC + Ag
Recunoaştere
Raspuns imunologic la Ag non-self
Toleranţă imunologică naturală la Ag self
Ig Mediatorii
LTs Mediatorii
Imunităţi umorale: antitoxică antiinfecţioasă
APĂRARE
Fen de sensibilizare umorală (imediată)
BOALĂ
IMC: antiinfecţioasă antitumorale
APĂRARE
FSMC (sensibilizare intîrziată) cronicizarea infecţiilor rejetul homogrefelor
BOALĂ
Facilitarea dezvoltării tumorii (periculos)
Facilitarea dezvoltării homogrefei (favorabil)
FENOMENE DE INTERFERENŢA

Ig = imunoglobuline; LTs = limfocite T sensibilizate; IMC = imunitate mediată de celule
FSMC = fenomene de sensibilizare mediate de celule

Fig. 61: Diagramă reprezentînd manifestările fundamentale ale sistemului celular imunocompetent (SCIC) la stimul antigenic (Ag).

IMC este aceea care determină şi rejetul homogrefelor; ca urmare, interferenţa prin Ig în acest caz ar duce la un alt fenomen de deviere imunologică (favorabil), *anularea rejetului.*

Toate aceste manifestări imunologice demonstrează necesitatea ca medicina să poată dirija răspunsuri imunologice în scop util:

— intensificarea imunităţii antiinfecţioase umorale şi/sau celulare (prin vaccinări, folosirea adjuvanţilor imunologici);

— intensificarea diferenţiată a IMC în scopul potenţării imunităţii antitumorale şi a anulării fenomenelor de facilitare (încercări cu potenţiatori nespecifici ai IMC);

— inhibarea IMC în cazul homotransplantelor (medicaţie imunodepresivă) etc.

Posibilităţile de manifestare a SCIC sînt sintetizate în figura 61; se demonstrează astfel că toate fenomenele imunologice pot avea „două feţe", una favorabilă, numită *imunitate,* şi una dăunătoare organismului, *imunopatogenitate*; reiese totodată că intensificarea fenomenelor de imunitate şi evitarea sau tratarea fenomenelor imunopatologice este o ştiinţă în care orice greşeală poate induce rezultate opuse bunei intenţii (!).

BIBLIOGRAFIE

1. BINET J. L., VILLENEUVE B.: La circulation lymphocytaire chez l'homme (sur une séance speciale de la Soc. Franc. d'hémathologie). *Presse. Méd.*, *76*, 34, 1 677—1 678, 1968.
2. CRABBE P. A.: Le tissu lymphoide des muqueuses gastro-intestinales humaines. II. Rôle. *Presse Méd.*, *76*, 39, 1 875—1 877, 1968.

3. GRESHAN R. K., KRUGER J., NAYSMITH J. D., WAKSMAN B. H.: Cellular basis for immunologic memory. *Nature*, 232, 639–641, 1974.

4. HARADA M., TAKIGUCHI T., HATTORI K.: T cell function detected in murine bone marrow cells. *Japan J. Exp. Med.*, *47*, 1, 15–24, 1977.

5. MITCHELL G. F. et all.: Immunological memory in mice. III. Memory to heterologous erythrocytes in both T cell and B cell populations and requirement for T cell in expression of B cell memory. Evidence using immunoglobulin allotype and mouse alloantigen theta markers with congenic mice. *J. Exp. Med.*, *135*, 2, p. 165, 1972.

6. MOULIAS S. R., BERTHAUX P.: Les populations cellulaires responsables de la réponse immunitaire. *Rev. Prat.*, *20*, 6, 839–859, 1971.

7. ROITT J. M., GREAVES M. F. et all.: The cellular basis of immunological responses. A synthesis of some current views. *Lancet*, 16 aug., 367–370, 1969.

8. SINCLAIR and CHAN R.: Relationship between antibody-mediated immunosuppresion and tolerance induction. *Nature*, 234, 104–105, 1971.

9. THIBAULD PH.: Actualité du thymus. *Presse. Méd.*, *78*, 1, 29–30, 1970.

10. VOLPE E. P.: TURPEN J. B.: Thymus: central role in the immune system of the frog. *Science*, *190*, 42, 1 101–1 103, 1973.

11. WECK L. L., De FREY J. R.: *Immunotolerance to simple chemicals*. Krager, Basel, 1966.

XVII. ANTICORPOGENEZA

Sînt prezentate (A) *modificările celulare consecutive stimulului antigenic primar și secundar care duc la apariția anticorpilor*, efectorii umorali și celulari ai răspunsurilor imunologice și (B) *teorii privind mecanismul de sinteză al anticorpilor*. Folosim termenul anticorp (Ac) în sensul cel mai larg: molecule și celule purtătoare de sedii de recunoaștere și cuplare cu antigenul (Ag), apărute ca urmare a contactului eficient al acestuia cu celulele SCIC; astfel de sedii sînt prezente atît pe suprafața imunglobulinelor, cît și pe suprafața limfocitelor specific sensibilizate, deci:

Ac-umorali sînt reprezentați de imunoglobuline (Ig),

Ac-celulari sau celulele cu funcție-anticorp sînt reprezentați de limfocite mici specific sensibilizate.

A. MODIFICĂRI CELULARE CARE PRECED APARIȚIA ANTICORPILOR

Pătrunderea unui Ag într-un organism este urmată de importante modificări celulare care preced apariția anticorpilor; modificările care au loc ca urmare a primului contact cu Ag diferă de acelea consecutive contactului secundar sau repetat cu același Ag (fig. 62 și 64).

1. MODIFICĂRI CELULARE CONSECUTIVE STIMULULUI ANTIGENIC PRIMAR (fig. 62)

Pătrunderea Ag în organism este urmată de mobilizarea la locul pătrunderii a polimorfonuclearelor neutrofile (microfage), cărora nu li se recunoaște rol în imunogeneză și, apoi, a macrofagelor, a căror participare este obligatorie pentru inițierea răspunsului imunologic, etapă numită *prelucrarea macrofagică a Ag*.

Acest proces poate avea loc în unul sau mai multe sedii *limfoide periferice* (fig. 63), ceea ce depinde de calea de pătrundere, de cantitatea și calitatea Ag: pătruns într-un sediu tisular și preluat de limfă, Ag poate ajunge în primul ganglion limfatic (ggl) regional, pe care îl poate depăși ajungînd și în alte sedii, sau nu; pătruns în sînge, direct sau pe cale limfatică, ajunge în splină și/sau în oricare alt sediu ganglionar. Prezent în organism, oricare din macrofagele sistemului reticulo-endotelial îl poate capta; aceasta este etapa care ar explica necesitatea unei mase şi greutăţi moleculare pentru ca substanţa să fie imunogenică; substanţe sub 1 000 gr. mol. sînt probabil eliminate fără necesitatea etapei macrofagice; eliminarea aceloraşi substanţe, necesită această etapă dacă ajung în intimitatea mediului intern legate de un cărăuş proteinic cu gr. mol. mare sau de un adjuvant.

Macrofagele (M) pot capta şi îngloba Ag direct sau înglobînd PN care l-au fagocitat anterior; după înglobarea Ag, oricare este sediul limfoid în care se opreşte M., sau chiar la poarta de intrare, în cîteva zile se formează *centrul sau centrii germinativi* (M. conţinînd în citoplasmă Ag, înconjurate de limfocite T şi B, în care apar imunoblaste, creşte treptat proporţia de plasmocite mature şi de limfocite mici specific sensibilizate).

În adevăr, după injectarea experimentală sau pătrundere naturală a unui Ag (stimulul imunogenic microbian sau nemicrobian) se poate observa hipertrofia ggl. regionali, sau şi a splinei.

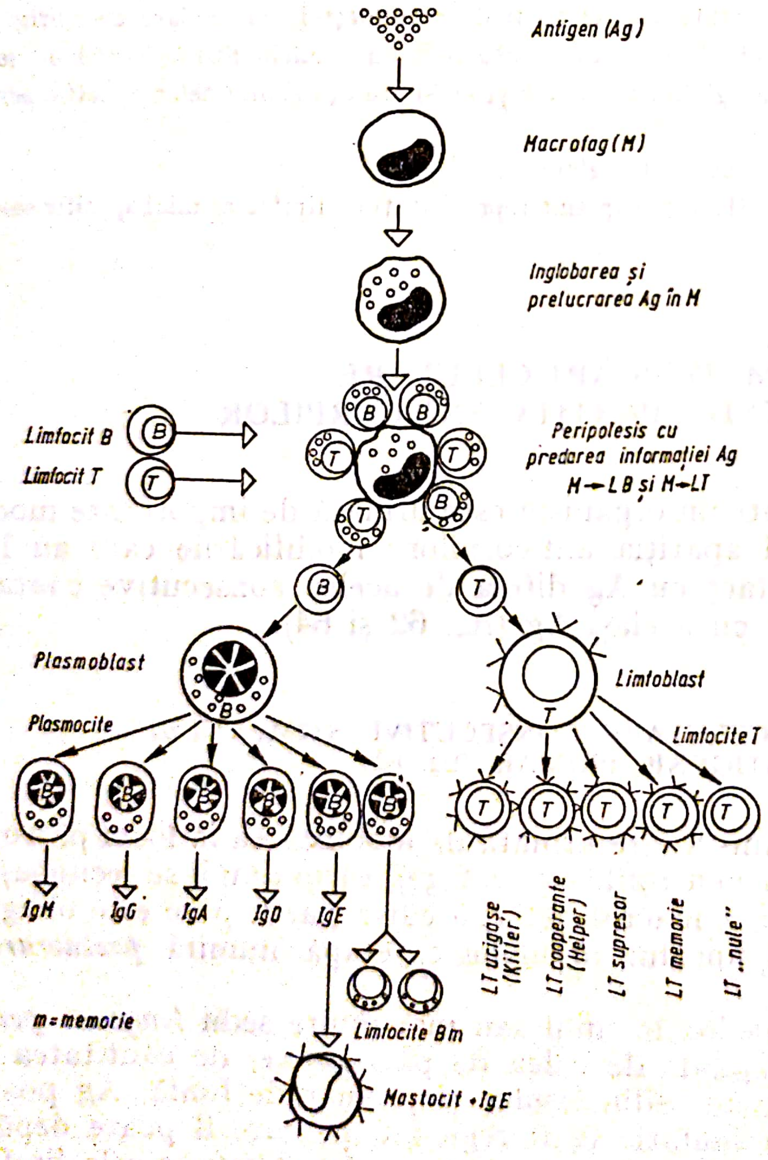

Antigen (Ag)
Macrofag (M)
Inglobarea şi prelucrarea Ag în M
Limfocit B
Limfocit T
B
T
Peripolesis cu predarea informaţiei Ag M→LB şi M→LT
Plasmoblast
Plasmocite
Limfoblast
Limfocite T
IgM
IgG
IgA
IgD
IgE
LT ucigaşe (Killer)
LT cooperante (Helper)
LT supresor
LT memorie
LT „nule"
m = memorie
Limfocite Bm
Mastocit + IgE

Fig. 62: Imunodinamica celulară în răspunsul de tip primar.

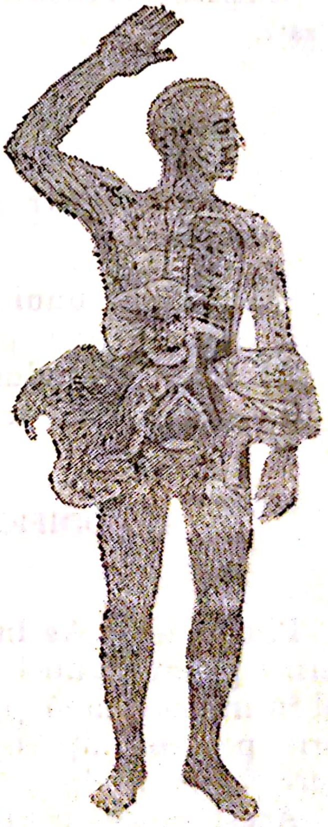


Fig. 63: Diagramă arătînd vasele şi cîţiva ganglioni limfatici mai importanţi (*Thompson* „Microbiol. and Epidemiol"., 1958).

a) **Prelucrarea antigenului în macrofag.** Atît Ag corpusculare cît și cele moleculare sînt înglobate prin invaginarea membranei citoplasmatice care se închide formînd vezicule de fagocitare, fagozomi; conținutul lizozomilor se descarcă în fagozom; enzimele catabolizează antigenul pînă la structurile care dețin „informația antigenică". Antigenul astfel modificat ar fi legat de un lanț ARN special (cu gr. mol. mai redusă decît a ARN-m și identic, oricare ar fi specificitatea antigenului legat). Combinația Ag modificat—ARN este numită „super-Ag" sau „ARN—imun".

b) **Predarea informației antigenice macrofag → limfocit T și B.** Este acceptat că celule imunocompetente (CIC), reprezentate de limfocitele T și B, primesc „informația" despre noul Ag pătruns în organism de la macrofage și că predarea informației are loc în centri germinativi prin contact direct. Acest contact ar avea loc cu formarea de punți citoplasmatice. În ce constă transferul nu se cunoaște, de aceea, teorii diferite au fost emise; există date experimentale că ARN-macrofagic extras de la animale imunizate („ARN imun") poate induce formarea de Ac la animale neimunizate.

După preluarea informației, are loc o etapă activă de diferențiere și proliferare a limfocitelor T și B.

Limfocitele T și B „informate" antigenic, intră într-o fază activă de diferențieri, transformîndu-se în celule mari, blastice, pironinofile sau „imunoblaste" (plasmoblaste și limfoblaste); acestea proliferează activ prin diviziuni succesive dînd naștere la două linii celulare morfologic și funcțional diferite:

plasmocite mature (P) și
limfocite mici specific sensibilizate.

Aceasta este etapa în care CIC devin *celule imunoformatoare* sau efectoare, deoarece atît imunoglobulinele produse de plasmocite (efectori umorali) ca și Lss (efectori celulari) vor participa direct sau vor media fenomene imunologice.

c) **Funcțiile limfocitului B.** Limfocitele B se diferențiază în plasmocite și în limfocite B cu memorie.

Plasmocitele sînt celule mature, care nu se mai divid, celule terminale; ele funcționează ca glande producătoare de Ig pe toată durata vieții lor care este de numai cîteva zile (4—5); ca urmare a stimulului Ag, ele apar, se înmulțesc și mor; odată cu ele apar, cresc cantitativ și dispar apoi treptat și imunglobulinele.

Populația de plasmocite secretă 5 clase de Ig diferite molecular, toate fiind însă purtătoare a aceleiași specificități sau sediu de cuplare cu Ag inductor; experiențele demonstrează că un P, produce o singură clasă de Ig.

Fenomenele imunologice care au loc cu participarea Ig sînt numite de tip umoral (Ig fiind prezente în umori) sau de tip imediat (datorită prezenței lor în sînge, în limfă și în spațiile extravasculare, ele intră repede în contact cu Ag).

Limfocitul B cu memorie persistă îndelung, el inițiază răspunsuri de tip secundar.

d) **Categorii funcționale de limfocite T.** Cea de a doua populație celulară, timus-dependentă, este formată din limfocite mici care au pe suprafață sedii de recunoaștere și cuplare specifică a Ag, identice cu cele prezente pe Ig. Aceste limfocite T se diferențiază după structura de membrană și funcție în:

(i) *limfocite T-memorie*: o mică parte din limfocitele T sînt celule cu viață lungă (ani de zile), intens recirculate, care păstrînd informarea antigenică reprezintă „*celule cu memorie imunologică*"; ele sînt responsabile de reacția accelerată și intensă declanșată de reîntîlnirea cu același antigen, „răspunsul imunologic de tip secundar". (Un limfocit T-memorie nu ar recunoaște decît anumite Ag constituind categoria T-dependente);

(ii) *limfocite T-ucigașe (T-killer)* capabile să determine liza celulelor „țintă" prin contact direct membrană-membrană;

(iii) *limfocite T-cooperante (T-helper)* care condiționează răspunsul în anticorpi al limfocitelor-B, față de antigene T-dependente, pe care limfocitele B nu sînt capabile să le recunoască direct;

(iv) *limfocite T-supresoare (*T-*supressor)*, inhibă reacția imunitară față de autoantigene (suprimă reacții autoimune, *efect favorabil*, dar și rejetul tumorii, *efect nefavorabil*);

(v) recent au fost descrise *limfocite-T „nule"*, angajate în proces imunologic numai după „armare" cu Ig de diferite clase (IgM, IgG).

2. MODIFICĂRI CELULARE CONSECUTIVE STIMULULUI ANTIGENIC SECUNDAR (fig. 64)

Apariția Ac umorali ca și proliferarea celulelor cu funcție Ac are loc mult mai rapid și mai intens la un nou contact cu un același Ag, ceea ce se explică prin persistența în organism a limfocitelor cu „memorie", T și B. Etapa de prelucrare macrofagică nu mai este necesară. Limfocitele cu memorie păstrează informația de structură a Ag cu care au mai venit în contact; deși în număr mic, ele persistă ani de zile, după unii cercetători toată viața, conservînd astfel informația obținută cu ocazia stimulilor antigenici anteriori. Ca urmare, la *o nouă pătrundere a aceluiași Ag*, contactul *limfocit cu memorie-Ag* va declanșa reactivitatea de „*tip secundar*". La nivelul organelor formatoare de Ac are loc așa-numita *hiperplazie reactivă*. Se constată concomitent o mobilizare rapidă a limfocitelor mici la locul de pătrundere al Ag, urmată de transformarea blastică (creștere bruscă a sintezelor de ARN, ADN, proteine), de proliferări mult mai rapide (în număr de plasmocite și Lss) comparativ cu aceea care are loc la stimul primar:

(i) Imunoglobulinele apar mai repede și în cantități mai ridicate. Apariția Ig față de majoritatea antigenelor bacteriene (flagelină polimerizată, polizaharid pneumococic, lipopolizaharidul bacililor gram-negativ) are loc prin contact direct cu limfocit B. Acestea sînt numite și Ag T-independente (Ig față de ele apar și la șoarece *nud*, timectomizat sau cu atimie congenitală).

Alte antigene sînt T-dependente (globule roșii de oaie, hemocyanina); apariția de Ig față de acestea necesită cooperarea LB-LT *helper*, prin contact direct (?) sau prin „mediator" (?).

(ii) În sediile în care este prezent antigenul apar focare inflamatorii în care predomină limfocite mici (infiltrate monocitare); modificările imunitare declanșate de contactul lim-

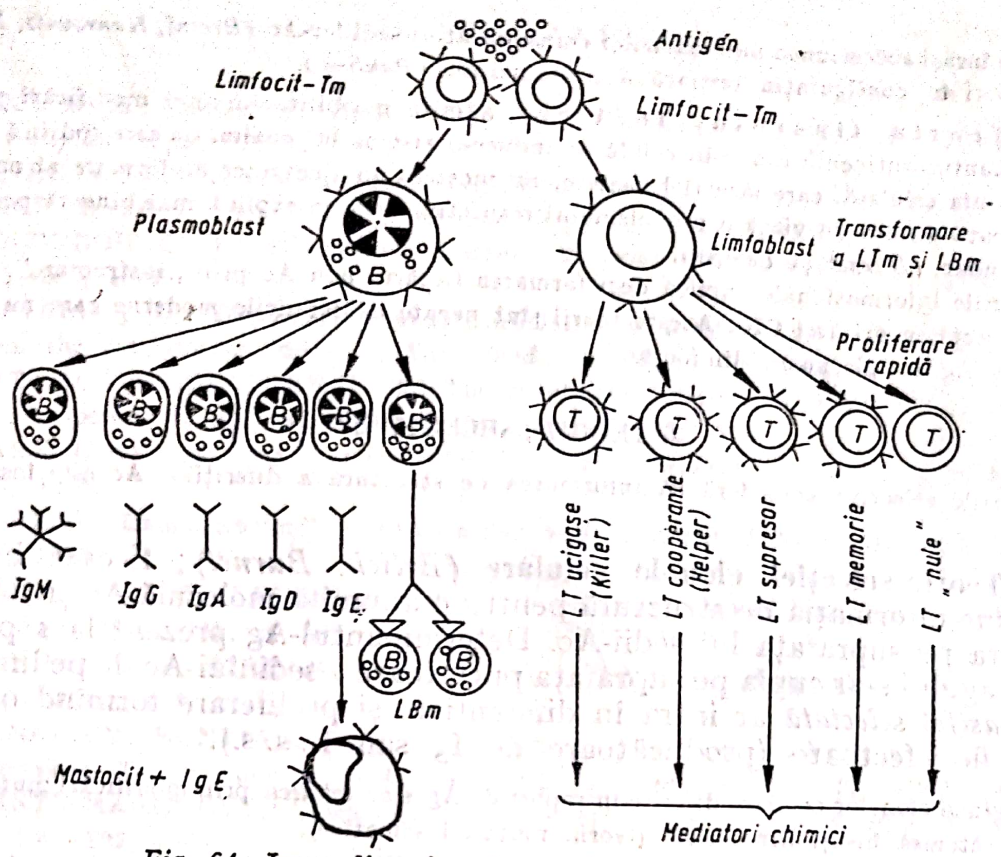

Antigen
Limfocit-Tm
Limfocit-Tm
Plasmoblast
B
Limfoblast
T
Transformare a LTm şi LBm
Proliferare rapidă
B
T
IgM
IgG
IgA
IgD
IgE
LT ucigaşe (Killer)
LT cooperante (Helper)
LT supresor
LT memorie
LT „nule"
LBm
Mastocit + IgE
Mediatori chimici

Fig. 64: Imunodinamica răspunsului de tip secundar.

focitului T cu Ag specific se produc ca urmare a sintezei şi eliberării de numeroşi *mediatori solubili* (limfokine): unii cu acţiune toxică directă asupra ţintei* (limfotoxine), alţii cu acţiune de recrutare, activare şi informare a noi celule: factorul de inhibare a migrării macrofagelor, a limfocitelor, factorul mitogen.

B. TEORII PRIVIND MECANISMUL DE SINTEZĂ AL ANTICORPILOR

Capacitatea unui organism de a sintetiza Ac faţă de *orice* determinant antigenic care ajunge în ţesuturi, inclusiv determinanţi sintetici, nu este încă pe deplin înţeleasă; cum intervine Ag pentru a induce specificitatea de structură a Ac, materializată prin prezenţa *sediilor specifice de cuplare* pe suprafaţa moleculelor Ig şi pe suprafaţa Lss.

Pentru a explica această inducere specifică de structură a Ac, au fost elaborate numeroase „*teorii*" care se pot încadra în două categorii: „informaţionale" şi „selective".

1. TEORII INFORMAŢIONALE (INSTRUCTIVE)

a) **Teoria informaţiei directe** (a tiparului direct) admitea pătrunderea şi persistenţa determinantului antigenic în celulă, probabil la nivelul ribozomilor, servind de *tipar* (mulaj) *direct* pentru configurarea sediilor de cuplare de pe suprafaţa moleculei-Ac, care devin astfel complementarul stereochimic al antigenului. Acest „mulaj" ar induce fie modificare în însăşi succesiunea aminoacizilor corespunzători sediilor-Ac *(Breinl, Haurowitz, Mudd)*, sau numai în configuraţia terţiară a proteinei-Ac *(Pauling)*.

---

* Molecula sau celula purtătoare de determinanţi antigenici.

b) **Teoria tiparului indirect** admite posibilitatea unei modificări pe care determinantul antigenic ajuns în celulă ar induce-o sistemului enzimatic care codifică sinteza de Ig. Linia celulară, care ia astfel naştere, ar moşteni noul caracter de formare al anumitor Ac pe toată durata de viaţă a organismului respectiv, ceea ce explică mai bine răspunsul de tip secundar *(Burnet* şi *Fenner)*.

Teoriile informaţionale explică deci formarea fiecărui nou Ac prin ,,instructare", directă sau indirectă, a oricărei CIC. Aceste teorii sînt negate de tehnicile moderne care nu pun în evidenţă Ag în plasmocite-limfocite.

2. TEORII ,,SELECTIVE"

Teoriile selective consideră că informarea de structură a diferiţilor Ac este înscrisă în genom.

a) **Teoria selecţiei clonale celulare** *(Erlich, Burnet)*; fiecare limfocit ar deţine informaţia de structură pentru o anumită moleculă-Ac şi totodată ar purta pe suprafaţa lui sedii-Ac. Determinantul-Ag prezent la suprafaţa macrofagului s-ar cupla pe suprafaţa purtătoare a sediului-Ac de pe limfocit; *celula astfel selectată* ar intra în diferenţiere şi proliferare formînd o clonă de celule efectoare (producătoare de Ig sau L. s. s.).

Originea clonelor celulare diferite în raport de Ag s-ar explica prin modificări mutaţionale care ar interesa însăşi limfocitele (teoria mutaţiei somatice).

b) **Teoria selecţiei subcelulare.** Genomul fiecărei CIC ar avea înscrisă codificarea de structură a unui mare număr de Ac; conform aprecierilor actuale fiecare limfocit ar codifica aproximativ 10^4—10^5 Ac diferiţi, ceea ce ar reprezenta 10—15% din fondul genetic al oului uman (10^6).

Originea genelor care codifică sinteza Ig s-ar explica prin modificări mutaţionale care ar interesa celule germinale, de-a lungul evoluţiei filogenetice (teoria selecţiei germinale).

Oricare ar fi mecanismul, este sigur că antigenul:

— subordonează mecanismul de sinteză al imunoglobulinelor;

— declanşează proliferarea importantă a unor linii de limfocite B şi/sau T;

— determină apariţia de sedii specifice de cuplare pe suprafaţa imunoglobulinelor şi a limfocitelor T (fig. 65);

— impune răspunsul CIC şi faţă de Ag sintetice, absente în natură, cu care filogenetic specia animală producătoare de Ac nu a venit în contact.

Ambele teorii admit, totuşi, că antigenul induce sinteza anticorpului prin *derepresia* unei gene.

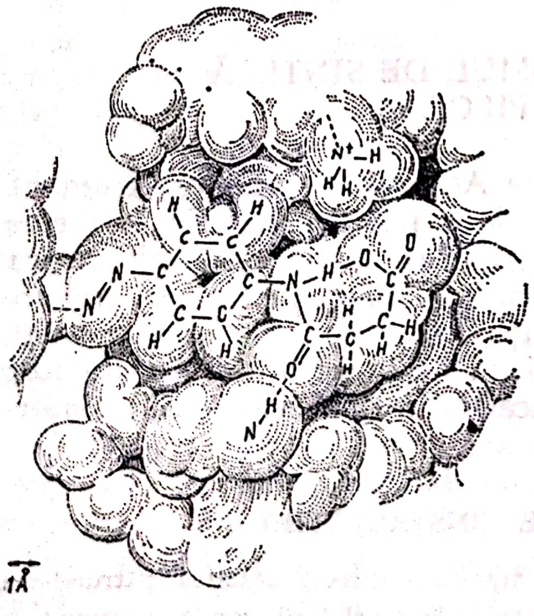


Fig. 65: Ilustrarea diagramatică a formei sediului de combinare a unei molecule de anticorp pentru grupul haptenic p-azo-succinanilat (După *Humphrey*, 1966).

BIBLIOGRAFIE

1. AMOS D. B., COHEN I., KLEIN W. J.: Mechanisms of immunologic enhancement. *Transplant Proc.*, *2*, 1, 68—75, 1970.
2. FAVER R.: Limphocytes et immunité. *Cahiers de Méd.*, 15, 12, 743—756, 1974.
3. HAUROWITZ F.: Antibody formation. *Phys. Rev.*, *45*, 1, 1965.
4. HOLBOROW E. J.: IV. Cellular immune faculties competence and memory. *Lancet*, 995—997, 1967.
5. HOWARD J. C.: The life-span and recirculation of marrow-derived small lymphocytes from the rat thoracic duct. *J. Exp. Med.*, *135*, 2, p. 185, 1972.
6. KATZ D. H., BENACERRAF B.: The regulatory influence of activated T cells on B cells responses to antigen. *Advances in Immunol.*, 15, 1972.
7. MARX J. I.: Suppresor T cells: Role in immune regulation. *Science 188*, 4 185, 245—247, 1975.
8. MARX J.: Immunology: Role of immune response genes. *Science*, 191, 4 224, p. 277—279, 1976.
9. MELLORS R. C., KORNGOLD L.: The cellular origin of human immunoglobulins. *J. Exp. Med.*, 118, p. 387, 1963.
10. MURRAY M. Y., STEIN N.: Gastric mucosal antibodies and iron absorbtion. *Proc. Soc. Exp. Med.*, *131*, 21, p. 565, 1969.
11. RENAUX M., MONTIS G.: De la combination antigène-anticorps à la réaction des cellules effectrices. Transmission de l'information. *Nouv. Press. Méd.*, 2, 281—282, 1973.
12. SAINTE MARIE GUY: Cytokinetics of antibody formation. *J. Cell. Phys.* 67, 3 (suppl. 1), 109—127, 1966.
13. SARAGEA M., NEGRU T.: Concepţii genetice în anticorpogeneză. *Microbiol. Parazitol. Epidemiol.*, *X*, 289—298, 1965.
14. SERSHUN R. K. et al.: Cellular basis for immunologic memory. *Nature*, 232, p. 639, 1971.
15. TOURAIN J. L.: Les déficits immunitaires. *Lyon Méd.*, *233*, 12, 1 223—1 237, 1975.
16. VOISIN G. A.: Physiologie de la production des anticorps. *Rev. Franc. d'études clin. et biol.*, *IX*, 6, p. 639, 1964.
17. WEISBERGER A. S., DANIEL T. A.: Suppression of antibody synthesis by chloramphenicol analogs. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, *131*, 3, 570—575, 1969.
18. * * *: Symposium on differentiation and growth of hemoglobin and immunoglobulin-synthesizing cells. *Cell. Phys.*, *67*, 3 (suppl. 1), 1966.

XVIII. ANTICORPI

„Anticorpii" sînt atît molecule de proteine serice cît și limfocite care apar în organism ca urmare a pătrunderii Ag și se caracterizează prin prezența pe suprafața lor a sediilor de *recunoaștere* și cuplare specifică cu Ag determinat, atît *in vivo* cît și *in vitro*.

A. IMUNOGLOBULINELE (Ig), ANTICORPI UMORALI

Ac umorali au fost cunoscuți inițial (1890—1900) pe baza funcțiilor de cuplare specifică cu Ag determinant, *in vitro*, prin reacții de aglutinare, precipitare, fixare de complement și liză, și *in vivo*, prin reacții de neutralizare și imunizare (inducerea rezistenței specifice). În 1938, *Tiselius*, folosind electroforeza serului sanguin, a demonstrat că imunizarea experimentală determină creșterea cantitativă a gamaglobulinelor serice, iar adsorbția serului imun cu Ag specific scade nivelul acestora; s-a constatat astfel că anticorpii sînt gamaglobuline, proteinele serice cu cea mai mare mobilitate electroforetică (fig. 66). Astăzi se știe că 98% din funcția-Ac aparține gamaglobulinelor și în mic procent (2%) beta-2-globulinelor, denumite generic *imunoglobuline* (Ig).

Orice tulburare (boală) care diminuă numărul de limfocite-B sau alterează diferențierea lor determină deficit de sinteză a Ig, hipogamaglobulinemii sau chiar agamaglobulinemii.

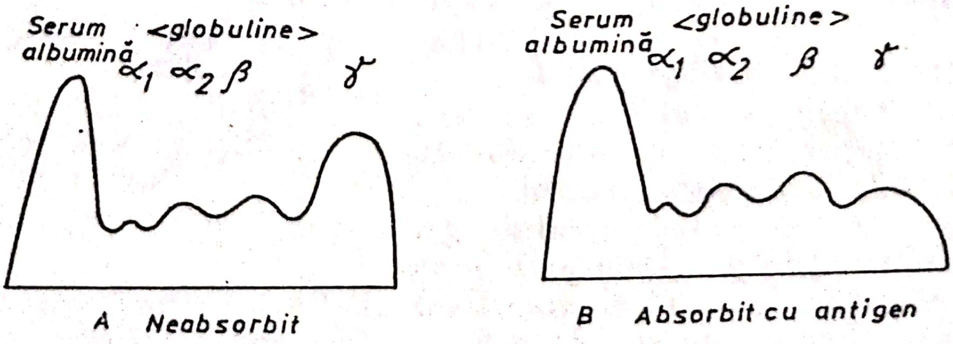


Fig. 66: Separarea serului hiperimun în fracțiunile majore prin electroforeză înainte (A) și după (B) adsorbție cu antigen; este redusă astfel fracțiunea γ-globulină.

Heterogenitatea Ig. Imunoelectroforeza* demonstrează existența a 5 clase denumite IgG, IgM, IgA, IgD și IgE, cu mobilități electroforetice și alte proprietăți fizico-chimice și biologice diferite (tabel 30).

Tabelul 30

Heterogenitatea fizico-chimică și biologică a imunoglobulinelor (Ig) la om, concentrație serică

Denumire actuală		Coef. de sed. „S"	Greutate moleculară	Formula antigenică; lanțuri: „L"	Formula antigenică; lanțuri: „H"	Număr de tetra-polipeptide	Concentrație în ser g/1000 ml	% Ig, în ser
Ac serici (circulanți)	IgM	19	900 000	k sau λ	μ	5	1	3—10
	IgG	7	150 000	k sau λ	γ	1	12	70—90
	IgA	7—9—17	170 000	k sau λ	α	1 ; 2	2	2—25
	IgD	7	155 000	k sau λ	δ	1	0,025	1
Ac citofili (reagine)	IgE	8	195 000	k sau λ	ε	1	0,0003	0,002

Structura chimică a Ig a fost studiată cu ajutorul digestiilor enzimatice (papaină, pepsină) și s-a stabilit că structura de bază a oricărei Ig este tetrapolipeptidică.

1. MOLECULA IgG, STRUCTURĂ, FUNCȚII

IgG este reprezentată de un unic tetrapolipeptid cu două lanțuri lungi (notate H, *heavy* = greu), cu gr. mol. 55 000, și două lanțuri scurte (notate L, *light* = ușor), cu gr. mol. 20 000, legate între ele prin punți disulfidice, dînd molecula cu gr. mol. 150 000 (fig. 67). Scindarea moleculei IgG permite obținerea a două fragmente identice notate *Fab (fragment antigen binding)* și un fragment notat *Fc (fragment constant)*.

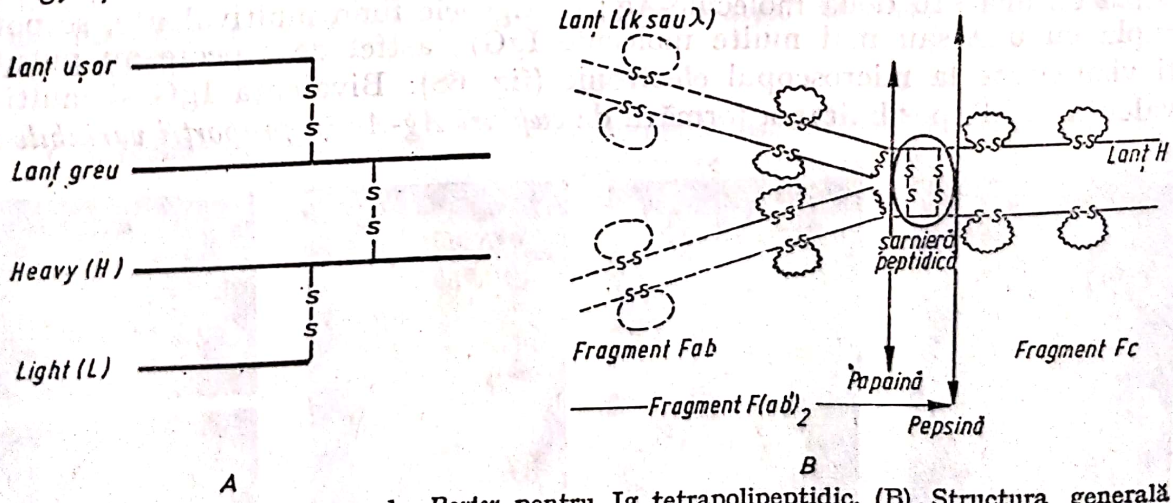


Fig. 67: (A) Model propus de *Porter* pentru Ig tetrapolipeptidic. (B) Structura generală a imunoglobulinelor (*N.C. Gorin*; C.M., 1976).

---

* Imunoelectroforeza este combinarea electroforezei cu o reacție Ag-Ac de precipitare și constă, de exemplu, în separarea electroforetică a antigenului (ser de om) și difuzarea perpendiculară a serului imun de iepure (antiser de om); la întîlnirea diferitelor fracțiuni Ag cu anticorpii respectivi se formează arcuri de precipitare.

Fiecare moleculă IgG are pe suprafața ei două sedii de cuplare cu Ag, un sediu de cuplare cu complementul (*C*), sediu de traversare a placentei, sediu de aderare la țesuturi; și

— determinanţi Ag corespunzători clasei IgG, specificitatea *gamma* a lanţurilor H şi specificitatea *kappa* sau *lambda* a lanţurilor L (tabel 30);
— determinanţi Ag care împart clasa în 4 subclase;
— determinanţi Ag de allotip (v. pag. 262).

a) **Bivalența Ig G.** Sediile de cuplare pentru Ag se găsesc pe fragmentele *Fab*, fiecare alcătuit din partea amino-terminală a unui lanț-H și un lanț-L; o parte din suprafața cuprinsă între ele corespunde unui sediu specific de cuplare cu Ag avînd configurație chimică complementară determinantului antigenic care i-a indus apariția, „mulajul negativ" al acestuia (fig. 66).

Specificitatea structurală a sediului de cuplare, pentru fiecare nou Ag, constă în secvența variabilă a 10—20 aminoacizi care intră în structura lui și în aranjamentul lor spațial. Microscopia electronică a pus în evidență plasticitatea imunoglobulinelor în sensul că prin fixarea Ag are loc rotarea fragmentelor *Fab* de la unghi 0° în molecula necuplată, (fig. 67, B) pînă la unghi 180° în molecula cuplată cu Ag; rotarea are drept consecință demascarea sediului de cuplare pentru complement (*C*).

Studiul reacțiilor Ag-Ac *in vitro* a demonstrat diferențe din punctul de vedere al solidității cuplului Ag-Ac în raport cu numărul de stimuli antigenici (intensitatea imunizării): cu cît stimulul-Ag este mai slab, cu atît sediile-Ac sînt mai puțin bine configurate, iar cuplul Ag-Ac mai puțin stabil, și invers, ceea ce determină grade diferite de *aviditate* a Ac.

Cuplarea IgG cu Ag. Fiecare moleculă IgG are două sedii-Ac, putîndu-se cupla cu una sau două molecule-Ag; (antigenele fiind multivalente, se pot cupla cu una sau mai multe molecule IgG); astfel de aspecte au putut fi vizualizate la microscopul electronic (fig. 68). Bivalența IgG și multivalența Ag dă posibilitatea formării de *cupluri Ag-Ac în proporții variabile*:

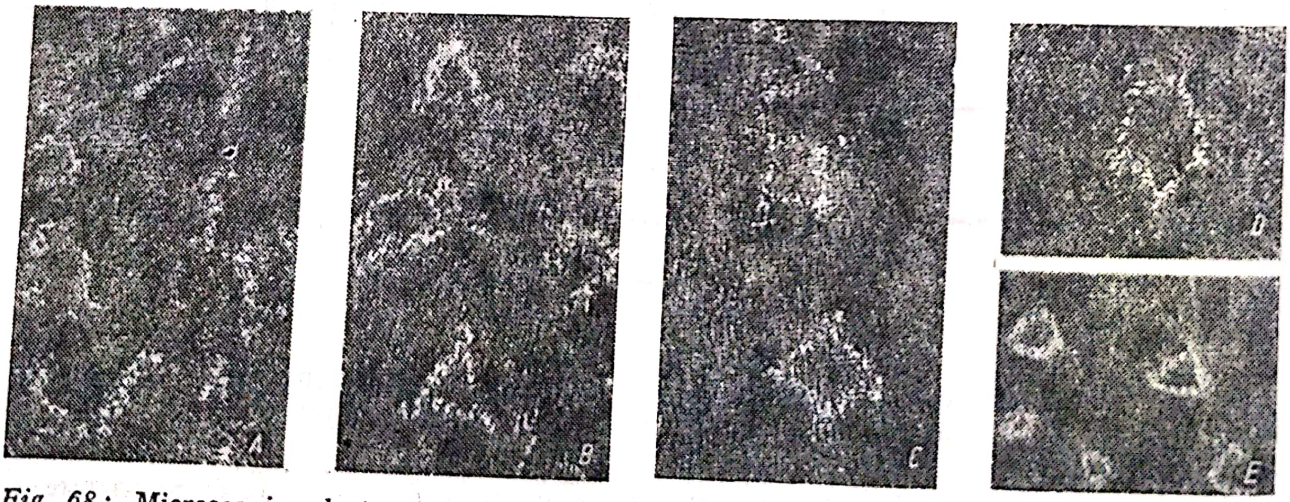


Fig. 68: Microscopie electronică (× 100 000) a complexelor formate prin amestecul unui hapten (DNP) divalent cu ser conținînd anticorpi anti-DNP.

Datorită plasticităţii moleculei Ac, haptenul leagă molecule-Ac (în formă de Y (fig. 67, A) formînd dimeri (A), trimeri (B), tetrameri (C) şi pentametri (D) (reprodus din *I. Roitt*, „Essential Immunology", 1972).

(i) cu exces de Ac, (ii) cu exces de Ag, (iii) cu numeroase posibilități intermediare. *Formarea cuplurilor în anumite proporții este dictată de densitatea moleculelor Ac și Ag în același mediu la un moment dat* (cu foarte diferite consecințe pentru organism atunci cînd au loc *in vivo* și cu manifestări foarte diferite *in vitro*).

In vitro prezența Ac și Ag în anumite *proporții optime*, *„de echivalență"*, permite formarea de „grilaje", cupluri înlănțuite cu număr foarte mare de molecule de Ac și de corpusculi sau molecule Ag; astfel de grămezi devin vizibile ca *precipitate*, formate din molecule-Ac cu molecule-Ag, ca *aglutinate*, formate din molecule-Ac cu antigene corpusculare (bacterii, celule animale ca hematii).

In vivo, fixarea Ig pe bacterii (ceea ce numim și *opsonizare*, iar Ac respectivi, opsonine) facilitează fagocitarea bacteriilor virulente. IgG sînt capabile să *neutralizeze* toxine.

Rata moleculelor Ig/Ag, în cupluri Ag-Ac, ca și densitatea lor în vase-țesuturi, la un moment dat, este determinantă pentru caracterul fenomenelor imunologice pe care le inițiază și al consecințelor pentru organismul în care au loc: grade de imunitate diferite (v. cap. XIX), fenomene imunopatologice, cu intensități și localizări infinite ca posibilități (v. cap. XX). IgG mediază atît fenomene imunologice, intravasculare cît și extravasculare.

b) **Sediul de cuplare pentru C** este prezent pe Fc *(fragmentul constant)* alcătuit din părțile carboxilice ale celor două lanțuri H ale moleculei IgG (mai ales activ la subclasele IgG_3 și IgG_1); pe molecula IgG necuplată cu Ag, acest sediu este mascat. De aceea, *complementul nu se poate fixa pe anticorpul liber*, ci numai după legarea Ac-Ag și rotația celor două fragmente *Fab* cu demascarea sediului pentru C; fixarea C are loc ori de cîte ori este prezent în același mediu cu cupluri Ag-Ac (complementul este totdeauna prezent în sînge și în alte umori).

Consecințele formării cuplului Ag + Ig + C. Complementul este un potențiator sau efector al reacțiilor inițiate de Ig care participă la fenomene *in vivo* de imunitate și imunopatologice. Fixarea lui pe cuplul Ag-Ac poate fi pusă în evidență *in vitro*, datorită citolizei, și reprezintă una din cele mai folosite reacții imunologice de diagnostic în infecțiile microbiene și în boli de sensibilizare, *reacția de fixare a complementului* (RFC).

*

Complementul sau sistemul complement este denumirea dată unui complex de 11 proteine, prezente în orice ser normal, sistem implicat în medierea hemolizei inițiată de anticorp. Componentele complementului (prescurtat *C*) sînt desemnate prin numere în ordinea intrării lor în acțiune, cu două excepții: (a) C1, mult timp după descoperirea lui, s-a găsit că este o macromoleculă constînd din trei proteine legate prin calciu și au fost desemnate $C1_q$, $C1_r$, $C1_s$ și (b) al 4-lea component descoperit, de fapt intră în acțiune al doilea ca secvență, dar s-a păstrat totuși denumirea „C4". (Componentele activate se marchează deasupra cu o bară orizontală, ex. $\overline{C_{567}}$.) Complementul este inactivat în 30 min. la 56°C.

*Calea primară de acțiune a C** este împărțită în trei faze: *recunoașterea* (executată de Cl_q, Cl_r, Cl_s), *activarea* (C_4. C_2, C_3) și *atacul* (C_5, C_6, C_7, C_8, C_9), în raport cu funcțiile executate secvențial de diferitele componente. Calea primară este declanșată de formarea imunocomplexelor Ag-Ac, cu recunoașterea și fixarea primei porțiuni, Cl_q, pe sediul respectiv de pe IgG sau IgM, urmată de fenomene ca:

---

* Există și o altă cale de activare a C, denumită *calea alternă* sau scurt-circuitată, în care alte proteine (între care factori din „sistemul properdinic") activează direct componenta C3.

— *favorizarea imunoaderenței*, complementul mediază fixarea cuplului Ag-Ac la suport tisular, și astfel

— *favorizează fagocitoza*, chimiotactismul fagocitelor pentru complexele Ag-Ig-C și capacitatea de a le îngloba;

— *citotoxicitate*, omorîrea sau inactivarea funcțională a celulei-țintă* (bacterie, protozoar, celulă tisulară, hematie etc.);

— *citoliză*, liza celulei-țintă*: (bacterie, protozoar; hematii (v. pag. 270).

*

c) **Traversarea placentei** este o funcție care aparține numai imunoglobulinelor G datorită greutății moleculare mici și, probabil, și a unui sediu special de fixare pe placentă care ar fi plasat pe Fc. Anticorpii transplacentari asigură imunitatea sugarului în primele luni de viață.

d) **Sediul de aderență la țesuturi** și celule sanguine (PN, M) este pe FC; fixarea are loc pe receptori prezenți pe membrane celulare după cuplare cu Ag și, probabil, rotarea fragmentelor *Fab*.

Distribuirea în organism a IgG. IgG reprezintă 70—90% din totalitatea Ig și sînt cele mai răspîndite, prezente atît în vase, ser (40% din IgG), limfă, cît și lichidele interstițiale extravasculare, în secrețiile de pe mucoasa intestinală, respiratorie, în urină, lapte, salivă, în mică cantitate în l. c. r., în lichide patologice de edem, ascită. Perioada lor de înjumătățire este de aproximativ trei săptămîni.

În timpul procesului de maturare a SCIC și în timpul imunizării față de fiecare Ag, IgG apar *după* IgM.

2. MOLECULA IgM

IgM (macroglobulina; gr. mol. 900 000; coeficient de sedimentare 19), este un pentamer (5 tetrapolipeptide legate prin punți disulfidice); molecula IgM are 10 *Fab*, sedii de cuplare pentru Ag (fig. 69).

Aceste Ig cu multe *Fab* au o deosebită eficiență de cuplare cu mai mulți determinanți Ag de pe membrana aceleiași celule (animale, bacteriene), fiind astfel mai buni Ac-aglutinanți, opsonizanți, și mai ales de activare a complementului, cu liza celulelor „țintă": *citoliză, bacterioliză*. IgM au deci o intensă activitate protectoare antimicrobiană; nu ar avea însă capacitate de neutralizare a toxinelor (molecule mici).

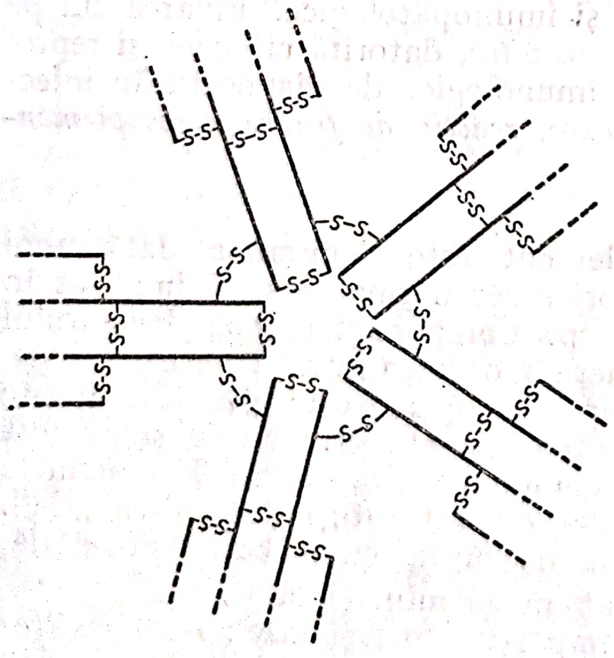


Fig. 69: Model ipotetic al moleculei IgM, cu 5 subunități tetrapolipeptidice formînd un pentamer. (După *Weir*, 1973).

---

* Celula-țintă = celula purtătoare de determinanți antigenici (*situs*-uri antigenice) care pot fi recunoscuți de Ig sau Lss.

IgM sînt anticorpii care apar primii după stimularea antigenică primară și sînt primii care apar în timpul maturării ontogenetice a SCIC; nou-născuții ating nivel IgM de tip matur la vîrsta de 6—9 luni.

Sînt prezenți numai intravascular; nu străbat filtrul hematic și nici pe cel placentar, de aceea prezența lor la nou-născut înseamnă infecție intrauterină; timpul de înjumătățire este de 5 zile.

3. MOLECULA IgA

IgA sînt prezente în cantități mult mai mici decît IgG și IgM în ser, *IgA seric*, și în cantități mai mari decît acestea în lichidele secretate, *IgA secretor*: salivă, lacrimi, secreția nazală și traheo-bronșică, suc gastric, intestin, bilă, în colostru, în lapte, în urină. Nu depășesc placenta.

IgA au structură terapolipeptidică (asemănător IgG): IgA *seric* este prezent ca monomer tetrapolipeptidic; IgA *secretor* este prezent ca dimer, format din două molecule (tetrapolipeptidice) legate între ele printr-un fragment special, numit piesa secretorie (PS), în baza căreia transsudează; PS este o glicoproteină sintetizată de celula epitelială a organelor secretoare și care protejază IgA în timpul transferului fie prin mucoase, fie prin epiteliul glandelor (parotide); inflamația mărește mult transmiterea pe mucoase a Ig și în special a IgA.

Este demonstrat rolul important al IgA în apărarea antiinfecțioasă a mucoaselor *(imunitate locală)*, antivirală în special, fiind mult mai rezistente decît IgG și IgM la acțiunea enzimelor proteolitice. Nu ar avea capacitatea de a fixa C și nici de neutralizare a toxinelor. Ar favoriza însă liza microbilor prin enzimele lizozomale.

4. MOLECULA IgD

IgD sînt prezente în ser inconstant și în cantități foarte mici ca monomeri tetrapolipeptidici; încă incomplet caracterizate din punct de vedere biologic.

★

Aceste 4 clase de Ig (IgG, IgM, IgA și IgD) sînt prezente în circulație, de unde și denumirea de *anticorpi serici* sau *circulanți*. Ei pot fi puși în evidență *in vitro* prin toate reacțiile Ag-Ac clasice, *serologice*, folosind serul sangvin (precipitare, aglutinare, fixare de complement) și prin reacții de neutralizare *in vivo*. De asemenea, fenomenele imunologice determinate de acești anticorpi pot fi transferate pasiv la animale neimunizate și nesensibilizate prin intermediul serului, ceea ce poartă numele de *imunizare pasivă*, *sensibilizare pasivă*.

5. IgE sau REAGINE

IgE (reagine, Ac-atopici, Ac-anafilactogeni) sînt o clasă specială de Ig, monomere bivalente; prezente în cantități foarte mici (80—330 µg/ml) în ser, au afinitate specială pentru anumite celule la care se fixează prin intermediul *Fc* sediile-Ac de pe *Fab* rămînînd libere, de unde și numele de Ac-citofili; sînt prezenți în serul bolnavilor cu afecțiuni anafilactice.

Plasmocitele care secretă IgE predomină în mucoasa tractusului respirator și gastrointestinal; în ser, IgE persistă 2—3 zile, fixîndu-se apoi (prin intermediul Fc) pe celule tisulare de origine mezenchimală, mastocite și PN bazofile, rămînînd fixate săptămîni și luni de zile. Este demonstrat că producerea de IgE în cantități mari la anumiți stimuli Ag (anafilactogeni) aparține anumitor tipuri genetice-om (astfel de predispoziții genetice au fost puse în evidență și la șoarece).

Prezența reaginelor pe celule le face foarte sensibile la fixarea Ag; fixarea Ag duce la alterarea membranelor celulare, la degranularea mastocitelor și bazofilelor cu eliberarea mediatorilor chimici (histamină, serotonină, heparină, bradikinină), cu consecințe explozive în țesuturi, reprezentînd *efectorii* fenomenelor de sensibilizare numite anafilaxii (v. cap. XX).

Încă nu se cunoaște bine rolul IgE în apărare antiinfecțioasă. Creșterea concentrației a fost demonstrată în infestări cu helminți și față de unele Ag bacteriene, ca *Bordetella pertussis*, cu înmulțire în mucoasă.

PROPRIETĂȚI ANTIGENICE ALE IMUNOGLOBULINELOR

Toate clasele Ig se comportă ca bune Ag cînd sînt inoculate la alte specii animale, fiind *multispecifice* (dotate cu diferiți determinanți antigenici); studiul antigenic al lanțurilor polipeptidice care intră în structura lor de bază a demonstrat că:

— *lanțurile ușoare, L*, sînt comune la toate clasele Ig, putînd exista sub două tipuri antigenic diferite, denumite k *(kappa)* și λ *(lambda)*; astfel, o anumită Ig (indiferent de clasă) are în structura ei fie lanțuri ușoare tip k (Lk), fie tip λ (Lλ);

— *lanțurile grele, H*, au specificitate de clasă (IgG, IgM, IgA, IgD, IgE), antigenele fiind denumite respectiv: γ *(gamma)*, μ *(miu)*, α *(alfa)*, δ *(delta)* și ε *(epsilon)*.

Ig majore se divid în *subclase antigenice*, prezente în concentrații diferite în serul fiecărui individ (om), determinate de particularități Ag ale lanțurilor H; se cunosc:

4 subclase IgG numite IgG_1, IgG_2, IgG_3, IgG_4;
2 subclase IgA numite IgA_1, IgA_2;
2 subclase IgM numite IgM_1, IgM_2;

— se cunosc, de asemenea, diferențe allotipice: diferențe antigenice ale lanțurilor H la IgG, de la grup la grup de indivizi (tabel 30).

DINAMICA APARIȚIEI IMUNOGLOBULINELOR

Dinamica apariției Ac umorali diferă după cum organismul ia contact pentru prima dată cu antigenul, răspunsul numit de *tip primar*, sau contactul este secundar, sau repetat, în care caz are loc răspuns de *tip secundar* sau *anamnestic* (fig. 70).

Răspuns de tip primar. După un prim contact cu Ag (primo-vaccinare, primo-infecție), urmează o perioadă de latență (L) de aproximativ o săptămînă, care corespunde modificărilor celulare ce preced anticorpogeneza; apar apoi cantități decelabile de Ig specifice, care cresc cantitativ, perioada de ascendență (A); anticorpii ating un maximum (M) după încă aproximativ o săptămînă, rămîn în platou o scurtă durată și începe scăderea continuă în următoarele 2—3 săptămîni (D).

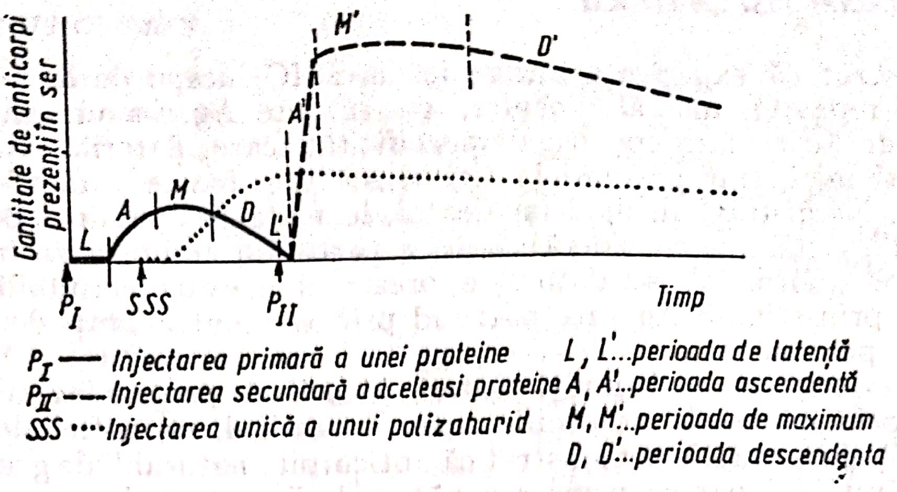


Fig. 70 : **Curbe schematice ale răspunsului în anticorpi pentru trei tipuri de stimul antigenic.**

Primii Ac care apar sînt IgM și persistă aproximativ o lună; dacă stimulul Ag este destul de puternic, apar IgG; dinamica lor este însă mai lentă și durata în organism mai mare, luni.

Răspuns de tip secundar. Reinocularea aceluiași Ag după un minim de 7—10 zile de la injectarea primară determină un *booster-effect* sau răspuns de *tip secundar* : Ac apar mult mai repede (în 1—3 zile), ating titruri maxime în 4—7 zile, mult mai înalte decît în cursul răspunsului primar (de 5—10 ori), și persistă la titruri semnificative mult mai mult timp, ani de zile și chiar toată viața.

Booster-efectul are loc și cînd al doilea stimul pătrunde în organism la ani de zile după primul, datorită „memoriei imunologice" a limfocitelor; în acest caz efectul imunologic este numit și *anamnestic*.

Aceste dinamici de „tip primar" și de „tip secundar" prezintă numeroase variații în raport cu :

- tipul de Ag (proteină simplă, conjugată, Ag solubil sau corpuscular);
- cantitatea de Ag injectată, sau pătrunsă ocult, anterior injectării;
- forma sub care a fost injectat (liber sau înglobat în adjuvant);
- calea de administrare (poarta de intrare), s.c., i.m., i.v., i.p.;
- nr. de doze și succesiunea stimulilor antigenici în timp.

Efect de tip secundar, mai redus, apare și la *reinjectare de haptene* care intrau în structura antigenului cu care a avut loc stimularea primară, mai ales dacă haptenul este înglobat în adjuvant.

În imunizări cu mai multe Ag sau cu Ag-multispecifice, fiecare determinant Ag prezent pe diferitele structuri moleculare sau corpusculare, va determina o dinamică proprie de Ac și, în general, răspunsul pentru fiecare component Ag va fi mai mic decît în imunizări cu monoantigene.

Obținerea efectelor de „tip secundar" este foarte importantă în vaccinări, profilaxia specifică.

ANTICORPI ZIŞI „NATURALI"

S-a văzut că experienţa antigenică a SCIC începe de la naştere prin contacte repetate, mai ales oculte, cu diferite Ag. Ca urmare, în organism, apar Ac cu larg spectru de specificităţi care, datorită stimulilor Ag în general mici, sînt prezenţi la titruri scăzute, foarte variabile. Apariţia „ocultă", înregistrată în mod incidental, le-a atras denumirea de anticorpi „naturali". Astăzi se consideră că mare parte din acţiunea antimicrobiană a serurilor „normale" se datoreşte prezenţei acestor veritabili anticorpi dobîndiţi prin stimuli Ag care pătrund prin sau sînt captaţi de macrofage direct de pe mucoase.

În prezent, cei mai mulţi autori identifică *properdina,* considerată anterior principiu seric nespecific activ bactericid, cu astfel de anticorpi „naturali". Este practic demonstrat că anticorpii „naturali" de grup sangvin, anti-A şi anti-B, apar ca urmare a pătrunderii în organism a unor polizaharide bacteriene cu structură A şi B la acei indivizi la care Ag corespunzător lipseşte.

Numeroşi Ac antimicrobieni sînt prezenţi la titruri mici, fără a se cunoaşte momentul pătrunderii antigenelor.

B. ANTICORPI CELULARI, LIMFOCITE T SPECIFIC SENSIBILIZATE (Lss)

Anticorpii celulari sînt reprezentaţi de limfocite-T specific sensibilizate, specificare ce constă în prezenţa pe suprafaţa lor a sediilor de recunoaştere şi cuplare a Ag, sedii concepute ca similare celor prezente pe molecula Ig. Limfocitele-T (descrise în capitolul anterior) sînt: (i) mediatori *(T-memorie, T. supresor)* şi (ii) efectori *(T-ucigaş)* ai IMC şi (iii) cooperanţi *(T-helper)* cu limfocitele-B în reglarea sintezei de Ig; LT-memorie sînt secretoare de limfokine cu foarte variate activităţi.

Răspunsul celular de tip primar se traduce prin „informare" (selectare) antigenică a limfocitelor-T cu sedii de recunoaştere pentru Ag, proliferare în decurs de 6—7 zile (fig. 62) şi mobilizarea lor la sediul/sediile unde se află Ag (bacterii) (fig. 64); ele se adaugă procesului inflamator nespecific deja iniţiat de PN şi M activate şi acţionează direct sau/şi prin intermediul limfokinelor.

Răspunsul celular de tip secundar se datorează *limfocitelor-T cu memorie* (deja prezente consecutiv stimulului primar) şi se caracterizează prin mobilizarea lor mult mai rapidă la locul unde a *repătruns* acelaşi Ag (microb); ele sosesc în focar înaintea polimorfonuclearelor (PN) care caracterizează apărarea celulară nespecificată imunologic; infiltratul este monocitar: L, M, P (fig. 64). Contactul LT-Ag reprezintă debutul etapei *specifice* a fenomenului de eliminare a Ag *non-self* cu participare celulară (IMC). Acest contact induce rapid:

1) transformare blastică şi proliferare activă a LTss, cu memorie;

2) eliberarea de limfokine, *mediatori chimici* moleculari cu activităţi foarte variate asupra macrofagului, a limfocitelor nesensibilizate şi în final asupra celulei-ţintă (microb, autoantigen, alte Ag).

Mediatori chimici activi asupra macrofagului (M):

factor chemotactic, de chemare şi agregare a M. în focar;

factor de inhibare a migrării M. din focar;

factor de activare enzimatică a macrofagului (macrofag activat).

După unii cercetători aceşti mediatori activi asupra M. ar corespunde unui factor unic, numit „*factor de transfer*" (LT → M), cu multiplele activităţi enunţate.

Mediatori activi asupra limfocitelor nesensibilizate:

factor limfotactic (chemare în focar);

factor de activare a transformării blastice şi

factor mitogen (activare a înmulţirii).

Mediatori chimici activi asupra celulei „ţintă" (purtătoare de determinanţi antigenici):

factor citotoxic, numit şi limfotoxic (fig. 71).

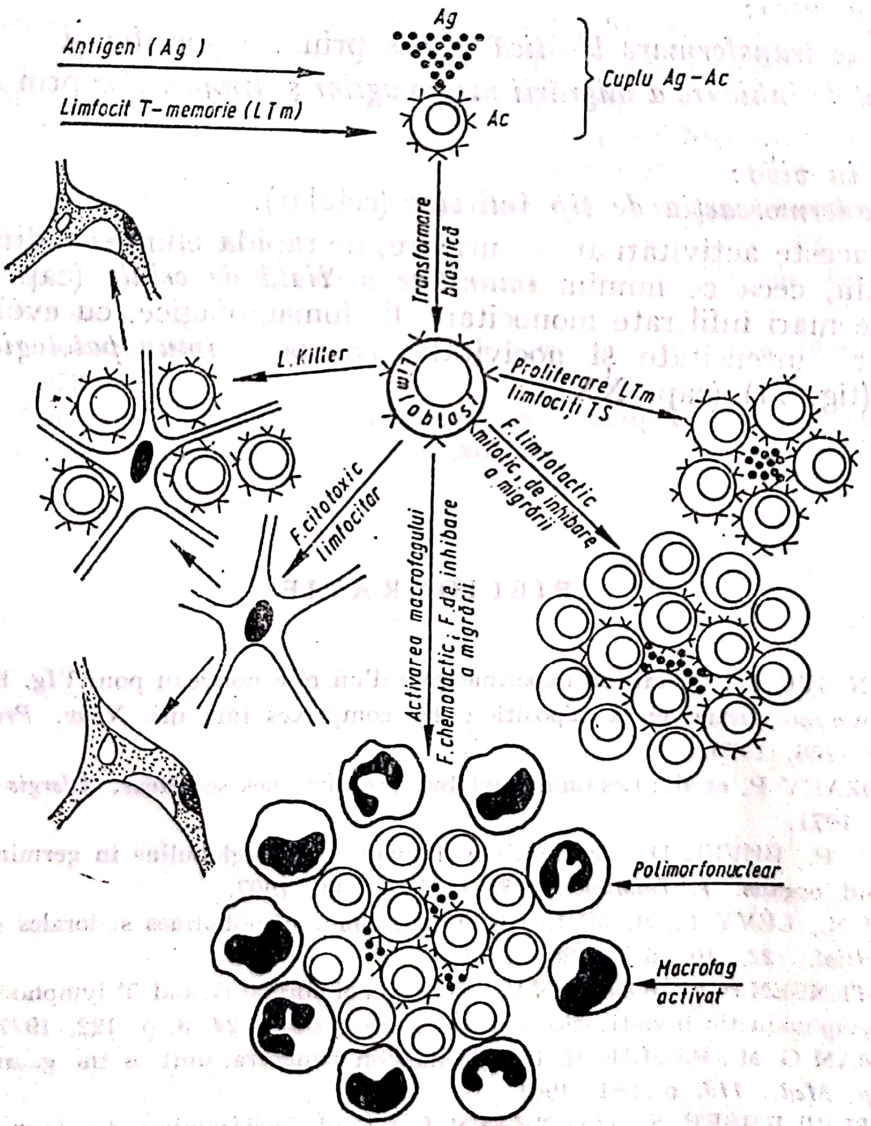

Antigen (Ag)
Limfocit T-memorie (LTm)
Ag
Ac
Cuplu Ag-Ac
Transformare blastică
L.Killer
Limfoblast
Proliferare LTm limfociţi TS
F. limfotactic mitotic, de inhibare a migrării
F.citotoxic limfocitar
Activarea macrofagului
F.chemotactic; F. de inhibare a migrării
Polimorfonuclear
Macrofag activat

Fig. 71: Rezultatul întîlnirii antigenului cu limfocite T cu memorie; acţiunea mediatorilor solubili elaboraţi de limfocite sensibilizate sub acţiunea antigenului (schematizare).

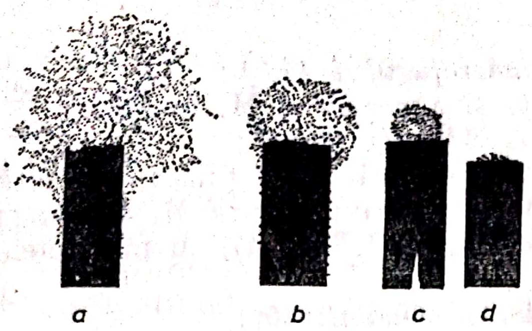


Fig. 72 : Testul de inhibare a migrării limfomacrofagelor de şobolan imunizat :

(*a*) migrare normală din capilare (în absenţa antigenului specific) ; (*b c, d*) grade diferite de inhibare specifică (prin antigen gripal). (*E. Duca* şi colab., 1970).

TESTE PENTRU DIAGNOSTICUL IMC

Majoritatea acestor activităţi pot fi demonstrate prin teste *in vitro* şi *in vivo*, care reprezintă azi reacţii de diagnostic pentru IMC şi pentru *fenomene imunopatologice cu mediere celulară*.

Teste in vitro :

— *test de transformare blastică a Lss* prin Ag specific şi

— *testul de inhibare a migrării macrofagelor şi limfocitelor* prin Ag specific (fig. 72).

Testul in vivo :

— *intradermoreacţia de tip întîrziat* (celular).

Toate aceste activităţi au, ca urmare, fie rapida eliminare din organism a Ag străin, ceea ce numim *imunitate mediată de celule* (cap. XIX), fie formare de mari infiltrate monocitare, limfomacrofagice, cu evoluţii foarte variabile ca intensitate şi nocivitate, *fenomene imunopatologice mediate de celule* (fig. 71) (cap. XX).

BIBLIOGRAFIE

1. BENVENISTE J. : Définition expérimentale d'un rôle nouveau pour l'Ig. E. Déclanchement immunologique de la déposition des complexes immuns. *Nouv. Presse Méd., 2,* 11, 703—706, 1973.
2. BRANDZAEY P. et al. : Les immunoglobulines humaines secrétées. *Allergie-Immunologie,* 1, p. 8, 1971.
3. BURTIN P., BUFFE D. : Synthesis of human immunoglobulins in germinal centers of lymphoid organs. *J. Immunol., 98,* 4, 536—543, 1967.
4. CABAU N., LÉVY F.,-M, MULLER O. : Les immunoglobulines sudorales chez l'enfant. *Path. Biol., 22,* 10, 883—888, 1974.
5. CHRISTENSEN B. E., JONSSON V. : Function of normal B and T lymphocytes deduced from lymphokinetic investigations. *Danish Med. Bull., 24,* 3, p. 122, 1977.
6. EDELMAN G. M., PAULIK M. D. : Studies on structural unit of the gamma globulins. *J. Exp. Med., 113,* p. 861, 1961.
7. FILLITI-WURMSER S., HARTMANN L. : Poids moléculaires des immunoglobulines Ig.M humaines et des leur unités. *Rev. franc. d'études clin. et biol., XIII,* 967—975, 1968.

8. GAJDAS A.: La biochimie des immunoglobulines. (1), (11). *Presse Méd.*, *77*, 4, 137—140, şi 9, 129—332, 1969.
9. GLEICH G. J., JACOB G. L.: Immunoglobulin E antibodies to pollen allergens account for high percentages of total immunoglobulin E protein. *Science*, *190*, 4219, 1106—1108 1975.
10. HOLBOROW E. J.: Antibodies anatomised. *Lancet*, *1*, 7495, 890—893, 1967.
11. MARX J. I.: Antibody structure: now in three dimensions. *Science*, *189*, 4208, 1075—1077, 1975.
12. MIHAESCO C., SELIGMANN M.: La structure des immunoglobulines M. *Rev. franç. d'études clin. et biol.*, *XIV*, 843—847, 1969.
13. PETITHORY J., BRUMPT L.-C., DE LOYE J.: L'immunoglobuline E. *Concours Méd.*, *98*, 32, p. 4007—4012, 1976.
14. PORTER R. R., WEIR R. C.: Subunits of immunoglobulins and their relationship to antibody specificity, *J. Cell. Physiol.*, *67*, 3 (suppl. 1), 51—64, 1966.
15. RENOUX M., WEIL B.: Les immunoglobulines de membrane à la surface de lymphocytes normaux. *Nouv. Presse Méd.*, *2*, 283—288, 1973.
16. RICHANDS F. F., KONIGSBERG W. H., ROSENSTEIN R. W., VARGA J. M.: Biochemical and biophysical evidence indicates the existance of polyfunctional antibody combining regions. *Science*, 187, 4172, 130—136, 1975.
17. SCHEET R. S., OWEN R. D.: Concepts of protein synthesis in relation to antibody formation. *J. Cell. Physiol.*, 50 (suppl. 1), 199—226, 1957.
18. SELIGMANN M., KLEIN M.: Structure et activité biologique des immunoglobulines. *Rev. Prat.*, *111*, 6, 883—901, 1971.
19. TOURAINE R.: Les immunoglobulines E. Données actuelles sur leur rôle dans les maladies allergiques. *Lyon Méd.*, 20, 1975.
20. * * *: Nomenclature des immunoglobulines humaines. *Bull. Org. Mond. Santé*, *48*, 3, p. 374, 1973.
21. * * *: Structure, function and evolutionary relationship of human immunoglobulins A, G, M, and E. *Science*, 191, 4 225, 390—391, 1976.

XIX. MECANISMELE IMUNITĂȚII ANTIINFECȚIOASE *

COOPERAREA CU FACTORI NESPECIFICI

> „Problema infecției prin bacterii rezistente la antibiotice necesită a fi atacată pe cale imunologică. Trebuie încurajată punerea la punct de vaccinuri anti-*Pseudomonas, Klebsiella*. . ." (1975, Rapp. sommaires sur les réunions; Bureau rég. de l'OMS pour l'Europe, p. 19).

Imunitatea este apărarea organismului prin, sau mediată de, factorii specifici numiți anticorpi. Imunitatea antiinfecțioasă este un caz special al proprietății generale a SCIC de a elimina din organism substanțe (vii sau nevii) diferențiate ca *non-self*; ea este consecința apariției și persistenței limfocitelor cu memorie, a proliferării lor rapide la contact cu antigene, a sintezei și eliberării rapide a efectorilor umorali. Trecem în revistă mecanisme prin care *Ac intervin direct în protecția și vindecarea de infecții și toxiinfecții, sau mediază și potențează acțiunea antiinfecțioasă a unor factori nespecifici.*

Numim imunitate umorală (IU) apărarea asigurată de Ig și imunitate mediată de celule (IMC) apărarea asigurată de limfocite-T.

IU asigură apărarea antitoxică și antimicrobiană față de microbii aflați extracelular; IMC asigură apărarea față de microbii aflați în celule (facultativ sau obligatoriu intracelulari).

A. IMUNITATE UMORALĂ

Efectorii și mediatorii IU sînt IgG, IgM și IgA. În principiu, prin intermediul sediilor specifice de cuplare de pe *Fab*, Ig se fixează pe determinanții antigenici de pe suprafața moleculelor de toxină sau a microbilor liberi în umori. *Ig asigură întreaga imunitate antitoxică* (în boli date de exotoxine și exoenzime-agresine, *asigură sau mediază întreaga imunitate față de microorganisme cu înmulțire extracelulară* (bacterii, fungi, protozoare); elimină și alte categorii de m. aflate în fază extracelulară (virusuri, rickettsii, chlamydii, bacterii facultativ intracelulare).

---

* Acest capitol întregește capitolul XIII, Apărarea antiinfecțioasă; particularități privind apărarea antivirală, în partea a V-a.

1. NEUTRALIZAREA MOLECULELOR DE EXOTOXINE ŞI AGRESINE *

Capacitatea de a neutraliza acţiunea nocivă a unor molecule aparţine IgG; ele se fixează pe determinanţii-Ag de pe suprafaţa moleculei de toxină, blocînd astfel şi sediile prin care aceasta se poate adsorbi pe receptorii celulelor tisulare (receptive); toxina este astfel neutralizată. Ig G neutralizează numai toxină liberă; ele nu au nici o acţiune după fixarea toxinelor pe ţesuturile sensibile. În ultimă instanţă, antitoxina se interpune între molecule de toxină şi receptorii celulelor tisulare. Fixarea eventuală a C măreşte complexul molecular (Ag + Ig + C) favorizînd fagocitarea şi eliminarea lui din organism.

Prin acelaşi mecanism, IgG neutralizează activităţile enzimelor-agresine, Ag sau haptene conjugate inductoare de Ac: antihemolizine, anticoagulază, antilecitinază etc.

În bolile prin exotoxine (tetanos, difterie, botulism), imunitatea este numai umorală; (în timpul procesului de imunizare naturală apar şi Ig antibacteriene dar fără valoare protectoare).

Valoarea protectoare a Ig reiese din faptul că vindecarea în aceste boli poate fi obţinută numai cu *ser antitoxic*, iar prevenirea este perfect asigurată de vaccinuri preparate din toxine, numite *anatoxine*.

Prin mecanisme similare, Ig blochează receptorii de pe corpusculii virali (aflaţi extracelular în faza de viremie), împiedicînd adsorbţia pe noi celule; ceea ce reprezintă neutralizarea virusurilor.

2. IMUNITATEA UMORALĂ ANTIBACTERIANĂ

Prima etapă constă în fixarea pe suprafaţa bacteriei a imunoglobulinelor (IgG, IgM, IgA) specifice factorilor antigenici de suprafaţă (Ig anticapsulare, anti-Ag de perete, anti-pili, anti-cili, după caz).

Prin însăşi fixarea pe bacterie, Ig modifică fizico-chimic structurile respective şi paralizează — interferează capacităţile bacteriei virulente dependente de aceste structuri (ataşare la celule receptive, invadare, rezistenţă la înglobarea în fagocite):

— este cunoscut, astfel, *fenomenul de umflare a capsulei*, demonstrat pentru cele mai multe bacterii capsulate, modificare a gelului capsular ca urmare a combinării cu Ig specifice;

— este demonstrată fagocitarea rapidă a acestor bacterii astfel *opsonizate***, independent de prezenţa complementului;

— este înregistrată acţiunea brutală a Ig de imobilizare a leptospirelor, urmată de efect bactericid, independent de prezenţa C;

— prin test de inhibare a creşterii este demonstrat efectul Ig direct asupra speciilor *Mycoplasma*.

Pentru majoritatea speciilor bacteriene însă, imunoglobulinele reprezintă doar mediatorul care declanşează *bacterioliza* prin sistemul enzimatic complement, singur, sau prin acţiune sinergică cu lizozimul, mecanism în special activ faţă de b. gram-negativ. Complementul favorizează, de asemenea, *imunaderenţa* şi mobilizarea fagocitelor în focarul infecţios,

---

* Acelaşi mecanism intervine în neutralizarea veninurilor.

** Opsonizate = preparate pentru a fi fagocitate; de la *opsonein* = a prepara hrană pentru . . .

chimiotactismul, intensificînd astfel fagocitoza, cel mai important mecanism de eliminare a bacteriilor opsonizate.

Fenomene antibacteriene inițiate de Ig și mediate de C. Formarea complexelor între Ig și antigenele bacteriene duce la demascarea sediilor de fixare a C de pe Fc (prezente pe IgM, IgG_3, IgG_1) ; este astfel declanșată intrarea în activitate a sistemului C prin combinarea macromoleculei $C1_{q.\,r.\,s}$ *(unitatea de recunoaștere)* cu receptorul pentru complement de pe Fc.

1) *Favorizarea fagocitozei.* Fixarea unității de recunoaștere declanșează intrarea în activitate a unităților C_4, C_2, C_3, care induc întregului complex proprietatea de *imunaderență* (de fixare la suporturi celulare — endotelii vasculare, celule sanguine, celule tisulare) ceea ce favorizează și fagocitarea (proprietate de *opsonizare*).

Concomitent, unitatea C_3 determină eliberare de histamină *(anafilatoxină)* din mastocite, bazofile, plachete și ca urmare este mărită permeabilitatea capilarelor și favorizată mobilizarea leucocitelor în focarul infecțios (chimiotactismul). Fagocitoza este și mai mult intensificată.

2) *Bacterioliza prin activarea C* este manifestă față de b. gram-negativ ; acest fenomen a fost descris pentru prima dată la vibrionul holeric de *Pfeiffer* și *Isaeff* sub denumirea de opsonizare-liză, cu completa dezintegrare a bacteriei.

Probabil, ca și în cazul celulelor animale, liza începe prin activarea unităților $C_{5,\,6,\,7}$, fixare la fracțiunea lipidică a stratului superficial al peretelui, sau al m.c.p,. urmată de alterări ale pereților, prin intervenția unităților citolitice C_8, C_9. La m.e. au fost văzute adevărate ,,fisuri'' prin care molecule mici din citoplasmă difuzează în mediu (fig. 73).

Fenomenul de alterare a peretelui este continuat, probabil, de intervenția lizozimului activ asupra peptidoglicanului, stratul bazal.

Fagocitarea bacteriilor opsonizate, alături de bacterioliza directă, mediată de C, lizozim, reprezintă intervenția imunoglobulinelor față de un foarte larg spectru de m ; rămîn însă microorganismele intracelulare, față de care organismul realizează apărarea prin IMC.

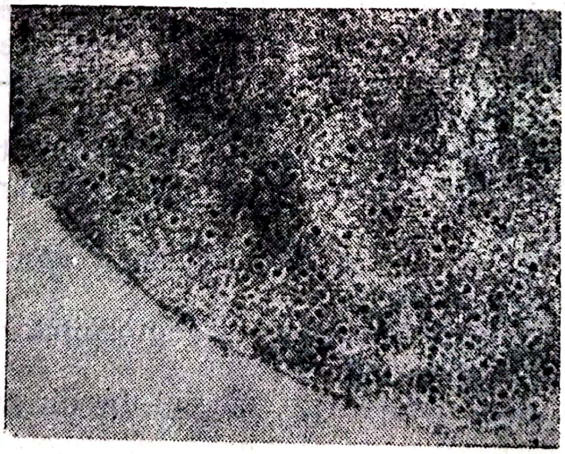


Fig. 73: Leziuni multiple ale peretelui la *Escherichia coli* cauzate de interacțiunea IgM cu complement.

Fiecare leziune este produsă de o singură moleculă IgM + + C′ (Mărire 400 000 × ; reprodus din *I. Roitt*, ,,Essential Immunology'', 1972).

B. IMUNITATEA MEDIATĂ DE CELULE

IMC intervine în apărarea față de microorganisme aflate intracelular, bacterii facultativ sau obligatoriu intracelulare, față de fungi, protozoare și virusuri (ca și în apărarea antitumorală)*.

---

* Același mecanism participă la rejetul homogrefelor.

Existenţa unei apărări specifice mediată de celule a fost dedusă din demonstraţii experimentale şi observaţii clinice care au arătat că în unele infecţii Ig nu asigură apărare:

— transferul de *ser imun* la om sau animal neimunizat este lipsit de efect protector preventiv şi curativ în tuberculoză, bruceloză, salmoneloze;

— efectul protector în TBC poate fi asigurat însă prin transfer de limfocite de la animal imun (din exudat peritoneal, splină, canal toracic, sînge periferic), la animal neimunizat;

— transferul pasiv al *„factorului de transfer"* limfocitar induce efect protector;

— infecţii care beneficiază de IMC apar frecvent la pacienţi cu insuficienţe timice şi pot fi induse la animale timectomizate la naştere, sau congenital, atimice (şoarecele *nud*);

— copiii limfopenici nu răspund la vaccinarea antituberculoasă şi la vaccinuri virale etc;

— în schimb, copiii hipogamaglobulinemici, cu reactivitate celulară normală, se vaccinează bine antituberculos;

— protecţia faţă de astfel de boli poate fi inhibată prin ser antilimfocitar etc.

Mecanismele prin care celulele asigură imunitate au fost mai tîrziu înţelese pentru că: (i) în IMC intervin şi celule, ca macrofagul, care participă şi în fagocitoza nespecificată, (ii) procesul inflamator iniţiat de limfocitele-T specificate continuă uneori şi se suprapune inflamaţiei nespecificate, (iii) procesul devine uneori prea intens şi nociv organismului (ca şi inflamaţia nespecificată); ca urmare, a fost văzută întîi *latura negativă* a reactivităţii celulare şi mai tîrziu cea favorabilă*.

Mecanismul prin care SCIC asigură eliminarea din organism a bacteriilor aflate intracelular este mediat de Lss; ele au funcţia de recunoaştere a celulelor purtătoare de antigene bacteriene (în care se înmulţesc bacterii). Contactul Ag-Lss determină diferenţierea şi proliferarea acestora ca şi eliberarea de limfokine.

a) **Formarea infiltratului monocitar.** Formarea infiltratului monocitar, limfomacrofagic, în jurul focarului [-elor] infecţios reprezintă un foarte eficient mecanism de localizare a infecţiei.

Afluxul şi proliferarea celulelor este dirijată de limfocite-T sensibilizate prin mediatorii solubili:

— *factorii chemotactici* care „cheamă" în focar alte limfocite, nesensibilizate, „nule", şi macrofage;

— *factorul mitogen* care activează proliferarea acestora;

— *factorul sau factorii de inhibare a migrării* care reţin limfocitele şi macrofagele în aria inflamată.

b) **Activarea macrofagului, fagocitoza specificată.** Acest mecanism este în special eficient în eliminarea bacteriilor denumite facultativ intracelulare, capabile să se înmulţească în macrofage neactivate (în organism neimunizat). Activarea macrofagului este indusă de factorul de transfer limfocitar. Acest fenomen se traduce prin:

— dezvoltarea morfoanatomică a macrofagului, cu aparat lizozomal mai important, luînd variate aspecte de celule gigante;

---

* Totuşi, *R. Koch* care a descris primul un astfel de fenomen în TBC şi *K. von Pirquet* care a generalizat noţiunile de imunologie, au descris de la început ambele laturi ale fenomenului mediat de celule, IMC (imunitate, *apărare*) şi HSMC (hipersensibilizare mediată de celule, boală).

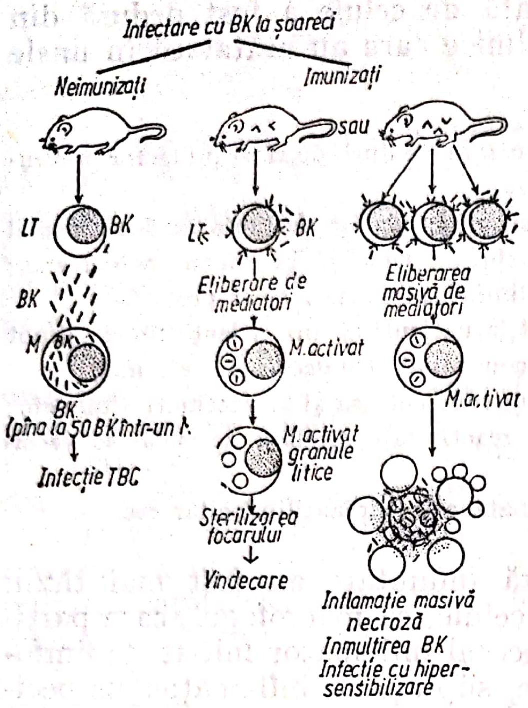

Infectare cu BK la şoareci
Neimunizaţi
Imunizaţi
sau
LT
BK
LT
BK
BK
M
BK
BK
(pîna la 50 BK într-un M
Infecţie TBC
Eliberare de mediatori
M.activat
M.activat granule litice
Sterilizarea focarului
Vindecare
Eliberarea masivă de mediatori
M.activat
Inflamaţie masivă necroză
Inmulţirea BK
Infecţie cu hiper-sensibilizare

Fig. 74: Reprezentare a imunităţii mediată celular în tuberculoză (listerioză etc.):

acţiunea limfocitului (LTs) sensibilizat în activarea macrofagului care devine capabil să „digere" b.f.i. (bacterii facultativ intracelulare). (prelucrat după *I. Roitt*, 1972).

– activare enzimatică manifestată prin capacitate mai mare de captare, înglobare şi liză activă a bacteriilor în fagozomi, datorită eliberării masive de enzime lizozomale specializate în digestie intracelulară. Astfel de aspecte au fost bine demonstrate experimental (fig. 71 şi 74).

c) Bacteriile obligatoriu intracelulare, speciile *Rickettsia* şi *Chlamydia*, se înmulţesc în diferite alte celule receptive similar virusurilor. Eliminarea lor din organism are loc prin mecanismele eficiente în eliminarea virusurilor (partea a V-a).

În concluzie, mecanismele IMC realizează *îngrădirea în focare inflamatorii* şi *eliminarea din organism a microbilor* care prin poziţia lor intracelulară scapă acţiunii Ig.

Inflamaţia monocitară şi macrofagul activat reprezintă transformarea fagocitozei şi inflamaţiei nespecifice (care are loc în organism neimunizat, ca mecanism constitutiv de apărare), în proces imunologic specific dobîndit şi totodată mai eficient (tabel 31).

În organism imunizat, orice repătrundere a microbilor declanşează deci *booster*-efecte umorale şi celulare, care neutralizează toxine, agresine, opsonizează, fagocitează şi lizează microbi sau celule încărcate cu microbi, ceea ce se traduce prin rezistenţă la boala infecţioasă, *imunitate*.

Tabelul 31

Eficienţa antibacteriană a fagocitelor în organism neimunizat şi imunizat (în care au apărut Ig, Lss, macrofage activate)

		În organism neimunizat (fagocitoză nespecificată imunologic)	În organism imunizat (fagocitoză imunologic specificată)
Bacterii cu înmulţire extracelulară	fără factori antifagocitari	B fagocitate de PN B fagocitate de M	B + Ig + PN B + (Ig) + Ma fagocitat
	cu factori antifagocitari	B rezistă înglobării sau se înmulţesc în PN B fagocitate de M	B + Ig + PN B + (Ig) + Ma fagocitat
Bacterii cu înmulţire intracelulară *		B rezistă înglobării în PN B înglobate, dar se înmulţesc în M	B rezistă înglobării în PN B sînt fagocitate de M-activat.

* Bacterii facultativ intracelulare (b.f.i.) şi bacterii obligatoriu intracelulare (b.o.i.)
B = bacterie; PN = polimorfonuclear; M = macrofag neactivat imunologic;
Ma = macrofag activat imunologic.

Tabelul 32

Mecanismele imunității pe grupe de bacterii

1. Bacterii toxigene:	IU	neutralizarea toxinei		
2. Bacterii virulente cu înmulțire extracelulară:	IU	opsonizarea bacteriei	fixare C — liză	
			fagocitoză prin	PN M
3. Bacterii virulente cu înmulțire extracelulară, producătoare de: toxine și/sau agresine	IU	opsonizare	fixare C — liză	
			fagocitoză prin	PN M
		neutralizare	exotoxine agresine	
4. Bacterii facultativ intracelulare	IMC IMC + IU			
5. Bacterii obligatoriu intracelulare	IMC IMC + IU			

IU = imunitate umorală;
IMC = imunitate mediată de celule;
PN = polimorfonucleare;
M = macrofage.

Din cele expuse rezultă că mecanismele declanșate de contactul cu Ag, și care conferă protecție antiinfecțioasă, variază de la infecție la infecție, în raport cu factorii de patogenitate și patogenia caracteristică fiecărui microb (cap. XII). Datele de pînă acum arată că:

— în unele boli infecțioase protecția este conferită numai prin Ig, imunitate umorală (tetanos, difterie, infecții pneumococice);

— în altele, protecția este conferită numai prin mecanism celular (tuberculoză);

— în cele mai multe, imunitatea se realizează prin cooperarea mecanismelor umorale și celulare, cu activarea factorilor nespecifici ai apărării (tabel 32).

Studiul mecanismelor imunității antiinfecțioase și a factorilor microbieni de patogenitate reprezintă baza modernă a selectării Ag-lor cu valoare vaccinantă pentru prepararea de vaccinuri eficiente în prevenirea infecțiilor.

Eficiența efectorilor și mecanismelor imunității depinde și de sediul infecției; pentru a fi eficienți, efectorii trebuie să ajungă în focarul sau focarele de infecție. De exemplu:

— *în sînge*, sînt prezente toate cele 4 clase Ig, în cele mai mari concentrații ca și celule efectoare ale imunității (Lss, M-activat), ale apărării nespecifice (PN, M), lizozim, complement ceea ce explică de ce bacteriile, deși ajung în mari cantități, nu se înmulțesc în sînge;

— *în LCR*, nivelul IgG este mai redus, IgM, IgA sînt absente, mobilizarea celulară este mai lentă, lizozimul este absent, C′ (?), ceea ce face din această zonă un *locus minimae resistentiae* și explică localizările și infecțiile frecvente cu bacterii, virusuri și fungi accidental patogeni la acest nivel;

— deși nivelul Ig poate fi ridicat în ser (ca și al antibioticelor) față, de exemplu, de bacteria care a dat infecție de *prostată*, acestea nu au acces în glanda bine încapsulată și bacteriile infectante supraviețuiesc îndelung etc.

În concluzie la acest capitol, chiar prezența Ac protectori umorali și celulari nu reprezintă o dovadă a eficienței lor în organism; eficiența sau lipsa de eficiență variază și cu patogenia infecției, modul și locul unde are loc formarea focarelor infecțioase; se înțelege astfel de ce pot surveni cronicizări prin fenomene de sensibilizare de tip celular, formarea de granuloame cu evoluții grave etc. (cap. XX).

C. CLASIFICAREA IMUNITĂȚII ANTIINFECȚIOASE ÎN RAPORT CU MODALITĂȚI DE DOBÎNDIRE

După cum reiese din tabelul 33 imunitatea poate fi dobîndită în *mod natural*, prin infecții (activ) sau prin IgG transmise transplacentar (pasiv), și în *mod artificial*, fie prin vaccinare (activ), fie prin injectare de ser imun (pasiv).

1. IMUNITATE DOBÎNDITĂ ÎN MOD NATURAL PRIN INFECȚII

În condiții naturale, imunitatea este dobîndită ca urmare a infecțiilor *aparente* și *inaparente*. Imunitatea astfel dobîndită poate dura toată viața, ca în rujeolă, variolă, tifos exantematic, febra tifoidă; în altele, este de durată mai scurtă sau se instalează greu, ca în infecțiile stafilococice bine localizate în foliculi piloși sau glande sebacee, ceea ce depinde de accesul stimulilor Ag la SCIC.

În majoritatea infecțiilor, imunizarea este însoțită de sterilizarea organismului de microbul infectant, eliminarea lui din țesuturi, așa-numita „imunitate sterilă".

Există și infecții în care vindecarea și imunizarea nu este urmată de totala eliminare a microbului din organism: un focar bine delimitat și inaccesibil anticorpilor (Ig, Lss) și antibioticelor poate persista ani de zile în pulmon, ca în tbc, în pereții vaselor mari, creier, măduvă, ca în sifilis, în vezicula biliară ca în febra tifoidă (de unde se elimină ani de zile). Consecințele persistenței acestor focare microbiene în organismul imunizat sînt variabile de la infecție la infecție; pentru purtător ele pot rămîne *mute*, inaparente, sau pot duce la formare de granuloame (inflamație monocitară) cu necroze (HSMC); unele, ca în febră tifoidă, reprezintă sursă de microbi care ajunși în mediul extern pot îmbolnăvi persoane neimunizate.

Tabelul 33

Clasificarea imunității în raport cu modalități de obținere

- **Imunitate**
  - **naturală**
    - **activă, prin**
      - **infecții inaparente,**
      - **boli infecțioase.**
    - **pasivă, prin Ac**
      - **transplacentar,**
      - **prin lapte (la sugar).**
  - **artificială**
    - **activă: prin vaccinare**
    - **pasivă**
      - **seroprofilaxie,**
      - **seroterapie.**

2. IMUNITATEA PASIVĂ DOBÎNDITĂ TRANSPLACENTAR

Imunitatea transplacentară este o modalitate naturală de dobîndire a imunităţii, fără intervenţia propriului SCIC, care rămîne pasiv. De aceasta beneficiază copilul în primele luni după naştere: IgG materne, singurele capabile să traverseze placenta, există în circulaţia copilului la naştere. În perioada persistenţei lor, copilul este dotat cu parte din răspunsurile imune de *tip umoral* de care beneficiază şi mama, acelea care ţin de IgG. IgG materne sînt treptat eliminate încît, deşi mai pot fi puse în evidenţă pînă la 7—8 luni, la această vîrstă nivelul lor este deja ineficient.

Copilul beneficiază de imunitatea transplacentară în perioada în care propriul SCIC nu este încă deplin maturat. Pe măsură ce imunitatea transplacentară dispare, propriul SCIC capătă experienţă imunologică pe măsura pătrunderii de stimuli Ag în organism; începe apariţia de IgM şi apoi IgG proprii.

3. IMUNITATEA ACTIVĂ DOBÎNDITĂ ARTIFICIAL, VACCINAREA

Vaccinările stimulează o mai grabnică maturare a SCIC; de aceea, „calendarul vaccinărilor" obligatorii începe în primele zile după naştere.

Vaccinoprofilaxia. Vaccinarea este metoda folosită pentru obţinerea rezistenţei specifice faţă de infecţiile cu mare morbiditate sau/şi mortalitate, fiind utilizată în scop profilactic. Cunoscînd marea valoare a factorilor specifici în apărarea antiinfecţioasă, cel mai important aspect practic al cunoaşterii fenomenelor de imunitate din punctul de vedere al patologiei infecţioase este intensificarea acesteia prin vaccinare. Fiecare vaccin lărgeşte spectrul de apărare antiinfecţioasă şi creşte capacitatea de apărare în general; „fiecare Ag fiind un *helper* imunologic" *(Mackaness)* pentru IMC. Timpul a demonstrat marea eficienţă profilactică a vaccinurilor în bolile date de m. înalt patogene şi au început să fie folosite vaccinuri faţă de bacterii condiţionat patogene, mai ales pentru acelea din care se pot selecta *tulpini periculoase de spital.*

În prevenirea zooantroponozelor, la om, un deosebit rol îl are vaccinarea animalelor (tabel 34).

Dozele şi ritmul vaccinărilor sînt astfel stabilite pentru a se obţine şi răspunsuri de „tip secundar", deci o cît mai completă stimulare a SCIC (fig. 70).

Vaccinurile utilizate diferă de la o bacterie la alta, în raport cu factorul sau factorii predominanţi ai patogenităţii fiecărei bacterii:

— *anatoxinele* (toxine detoxifiate) se folosesc în prevenirea bolilor date de exotoxine bacteriene;

— *vaccinurile corpusculare**, sau vaccinuri preparate din antigene de virulenţă purificate (polizaharide capsulare) adsorbite pe suport proteic imunogen sînt folosite pentru prevenirea bolilor date de bacterii virulente;

---

* Insuficienta cunoaştere a factorilor şi antigenelor de patogenitate şi/sau marile dificultăţi de obţinere şi/sau de purificare a lor duce la folosirea de vaccinuri reprezentate de suspensii bacteriene (totalitatea antigenelor şi haptenelor bateriei).

Tabelul 34

Vaccinuri bacteriene

Tipuri de vaccinuri		Vaccinuri cu aplicare, la om,		Vaccinuri animale cu eficiență în profilaxia infecției la om:
		generală[1]	ocazională[2]	
antitoxice:	anatoxine	antidifteric antitetanic		
antibacteriene	Vii (cu virulență atenuată)	antituberculos (BCG)	antibrucelos antitularensis	antibrucelos anticărbunos
	omorîte	antipertussis	antitifoparatific (TAB)[4] antiholeric[4] antidizenterice[4] antiexantematic[4]	antimorvos antiholera găinilor
	antigene de virulență purificate		antipneumococice antimeningococice	
mixte:	antibacteriene și antitoxice		anticărbunos antipestos	

necesare, nerealizate sau în experiment:

bacterii înalt patogene
- antistreptococic serogrup A
- ,, gonococic
- ,, sifilitic
- mixte: antiholeric, antidizenteric
- ,, trachomatis

bacterii cond. patogene
- anti *H. influenzae* serotip B
- ,, *Kl. pneumoniae*
- ,, *E. coli*
- ,, *S. aureus*
- ,, *Ps. aeruginosa*:
- ,, *Mycoplasma pneumoniae.*

bacterii accidental patogene: ? (au fost făcute unele propuneri).

---

[1] La toți susceptibilii;

[2] în zone endemice sau la anumite grupe de risc;

[3] cele mai bune vaccinuri de care dispune medicina;

[4] vaccinuri nesatisfăcătoare.

— *vaccinurile mixte*, anatoxine plus vaccin corpuscular, sînt utile în boli date de bacterii care au și toxine și factori de virulență (cărbune, gangrenă gazoasă); tabel 34.

Vaccinurile sînt preparate atoxice, avirulente*, cît mai puțin sau deloc nocive organismului, care și-au păstrat valoarea imunizantă.

Independent de stimularea artificială a SCIC prin vaccinări, care grăbesc maturarea acestuia după naștere, maturarea SCIC are loc în mod natural mai ales prin captarea de Ag bacteriene eliberate de flora naturală a mucoaselor, specii cunoscute și necunoscute. Acest fenomen de captare a Ag de pe mucoase are loc toată viața. Ca urmare, în organismul fiecărui individ există Ac cu specificități diferite care se modifică odată cu flora care-i induce, denumiți generic *Ac naturali*. Cînd un individ face o infecție cu o variantă virulentă, SCIC răspunde printr-o dinamică de tip secundar *(booster)* față de antigenele cu care s-a mai întîlnit, și prin dinamică de tip primar față de noile antigene.

4. IMUNITATEA ARTIFICIALĂ PASIVĂ, PRIN SER IMUN

Imunitatea poate fi indusă prin injectare de ser imun specific (preparat prin hiperimunizarea cailor) și durează 10—15 zile. Are aplicare numai în infecții care beneficiază de imunitate umorală, în bolile prin exotoxine (tetanos, difterie, botulism), ca și în boli în care imunitatea antitoxică și antiagresinică are o pondere mare (gangrenă gazoasă, cărbune). Administrarea de ser imun se utilizează în scop terapeutic și în scop profilactic.

Seroprofilaxia are caracter de urgență, în iminență de îmbolnăvire, ca urmare a unui contact infecțios sigur (în perioada de incubație). Are o aplicare limitată; serul nu poate fi administrat decît o singură dată. (Recurgerea la seroprofilaxie înseamnă recunoașterea eșecului profilaxiei sau neaplicarea normelor de vaccinare).

Seroterapia, sau terapia imunologic specifică, se folosește în tetanos, difterie și botulism, boli date numai de toxine; în cărbune și în gangrena gazoasă, serul mixt antitoxic și antibacterian, asociat antibioticoterapiei, este valoros în cazurile toxemice (în aceste boli un rol important în patogenie îl joacă și bacteria și exoenzimele-toxinele).

Datorită fenomenelor de sensibilizare prin seruri de cal, seruri heterologe, ca „șocul anafilactic” și „boala serului”, orice seroterapie și seroprofilaxie este precedată de o anamneză riguroasă, pentru a cunoaște dacă bolnavul a mai primit sau nu ser de cal. În cazul în care acest fapt nu poate fi stabilit, se practică intradermoreacția (i. d. r.) de depistare a stării de sensibilizare și, în cazuri pozitive, desensibilizarea tip *Besredka* (v. cap. XX). Pentru a preveni accidente de sensibilizare, se militează și pentru o mai largă utilizare a Ig purificate *umane*, de adult și de convalescent, superioare prin aceea că (i) elimină riscul accidentelor alergice și (ii) se mențin în organism mai îndelung, 3—4 săptămîni (comparativ cu serurile heterologe care se elimină în 15 zile).

---

* Insuficienta înțelegere actuală a mecanismelor imunității mediată de celule în bacterioze obligă încă la folosirea de vaccinuri vii cu virulența atenuată.

BIBLIOGRAFIE

1. CHOSNIER R.: *Immuno-profylaxie pratique des maladies infectieuses.* Librairie Maloine, Paris, 1967.
2. CHRISTOL D., BOUSSOUGANT Y.: Les facteurs de défense contre l'infection. *La Rev. du Practicien, 111,* 6, 819–836, 19, 1971.
3. CLEMENT R.: Immunisation contre les maladies infectieuses. *Presse Méd., 78,* 7, 315–317, 1970.
4. DEGRE M., DAHL H.: Enhanced effect of repeated administration of bacterial vaccine against viral respiratory infection. *Infection and immunity, 7,* 5, 771–776, 1973.
5. DUCA E.: Mecanismele imunității dobîndite antiinfecțioase. *Rev. Med. Chir.,* Iași, 2, 476–484, 1968.
6. FAVRE R.: Lymphocytes et immunité. *Cahiers méd., 15,* 12, 743–756, 1974.
7. FRELINGER J. A., NIEDERHUBER J. E., SHEFFLER D. C.: Inhibition of immune responses *in vitro* by specific antiserums to antigens. *Science, 188,* 4185, 270, 1975.
8. FUNDENBERG H. et all.: Classification des deficits immunitaires primitifs. *Arch. Franç. Péd.,* 28, 655–657, 1971.
9. HYOCU-OBI A. N., OSEBOLD J. W.: Studies on mechanisms of immunity in listeriosis. *J. Immunol., 89,* 2, p. 187, 1962.
10. LANG J. M. et al: L'exploration de l'immunité cellulaire en clinique. *J. Méd. de Strasbourg,* 10, p. 575, 1974.
11. MACKANESS G. B., BLANDEU R. V.: Cellular immunity. *Progr. Allergy,* 11, 89–140, 1967.
12. MONTRION B., SERRE A.: Études des immunoglobulines salivaires après vaccination locale antistreptococique. *Path. Biol., 22,* 4, p. 305, 1974.
13. MOULIAS R., GOUST J. M., REINERT PH. et al: Facteur de transfert de l'immunité, cellulaire. Essais thérapeutiques préliminaires au cours des déficits immunitaires spécifiques d'un antigène en clinique humaine. *Nouv. Presse Med.,* 20, 1341–1344, 1973.
14. RAFF M. C.: T and B lymphocytes and immune responses. *Nature,* 244, 19–23, 1973.
15. ROTHER K., ROTHER U.: Immuno bactericidal activity of complement. *J. Immunol. 93,* 2319–330, 1964.
16. RUBIN A. S., COONS A. H.: Specific heterologous enhancement of immune responses. II. Immunological memory cells of thimic origin. *J. Exp. Med., 135,* 2, p. 437, 1972.
17. SIMION H. B., SHEAGREN J. N.: Cellular immunity *in vitro.* 1. Immunologically mediated enhancement of macrophage bactericidal capacity. *J. Exp. Med.,* 133, 1 377–1 389, 1971.
18. STAUB A. M., ETIEVANT M.: De l'aléxine aux 9 constituants actuels du complément. *Bull. Inst. Pasteur,* 69, 295–317, 1971.
19. SULITZEANU D.: Mechanisms of immunity against *Brucella. Nature, 205,* 4976, 1086–1088, 1965.
20. VOISIN G. A.: Immunité, facilitation et tolérance. *Allergie et immunologie,* 4, 1971.
21. WU W. G.: Humoral factors in cellular resistance. The role of complement and properdin in phagocytosis and cytopepsis by normal and immune macrophages. *J. Immunol., 92,* 3, p. 297. 1964.
22. * * *: Vaccines contre les maladies rickettsiènnes *Sér. Rapp. techn., OMS,* 325, 1966.
23. * * *: Utilisation des immunoglobulines humaines. *Sér., Rapp. techn., OMS,* 327, 1966

XX. SENSIBILIZAREA ALERGICĂ

FAZA IMUNOLOGIC-SPECIFICĂ DECLANȘANTĂ A FENOMENELOR IMUNOPATOLOGICE. FENOMENE DE SENSIBILIZARE DE ETIOLOGIE MICROBIANĂ

A. NOȚIUNI DE BAZĂ

Combinarea Ag cu Ac specific în anumite raporturi cantitative și în cantități mari, concomitent, poate fi vătămătoare pentru țesuturi. Cuplarea Ag-Ac (umoral sau celular) funcționează ca factor declanșant al unor alterări celulare urmate de eliberarea de substanțe enzimatice și hormonale care mediază suite de fenomene patologice, fără sau cu constituire de infiltrate inflamatorii monocitare.

Teoretic, orice Ag străin* pentru SCIC poate iniția *fenomene patologice* în organismul sensibilizat *(în care sînt prezenți Ac), numite fenomene imunopatologice sau alergice.*

Microorganismele joacă un rol major în determinarea de boli alergice, funcționînd (a) ca hetero-Ag, (b) ca factori de alterare a barierelor de segregare sau de inducere de auto-Ag, (c) datorită unor haptene comune bacteriei și anumitor structuri tisulare din organismul în care pătrund (tabel 29).

Urmărirea descoperirii fenomenelor de sensibilizare, în ordinea în care s-au impus ele cercetătorilor și clinicienilor, reprezintă o bază logică pentru înțelegerea mecanismelor determinante.

1. PRIMELE FENOMENE EXPERIMENTALE DE SENSIBILIZARE

(i) În 1839, *Magendie* a înregistrat un astfel de fenomen, fără a-l fi putut explica: ovalbumina, netoxică pentru iepure la prima injectare, devine *uneori* „toxică" la reinjectare (!);

(ii) Un fenomen similar a observat *Behring* (1890) cu toxină tetanică: doze mici, subletale, de toxină, bine suportate de animale noi** pot omorî *uneori* animale hiperimunizate (!); neînțelegînd mecanismul acestei morți, *Behring* a numit-o „reacție paradoxală".

(iii) În 1896, *R. Koch* a descris un fenomen similar în tuberculoză (TBC), numit *fenomenul Koch*: cobaiul cu infecție TBC, reinoculat după 5—10 săptămîni cu bacili vii, *reacționează altfel* decît la prima inoculare; leziunea locală apare și evoluează mult mai repede și mai intens, cu puternică reacție celulară, care *determină necroză cu eliminarea noului focar de infecție.*

---

* Hetero-, izo- și autoantigene.

** Animal neinjectat anterior cu același produs.

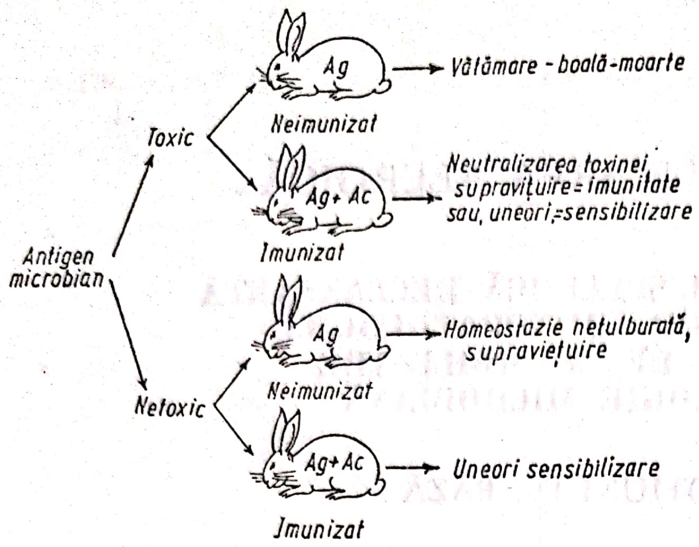

Ag
Vătămare - boală - moarte
Neimunizat
Toxic
Ag+Ac
Neutralizarea toxinei
supraviţuire = imunitate
sau, uneori = sensibilizare
Imunizat
Antigen
microbian
Ag
Homeostazie netulburată,
supravieţuire
Neimunizat
Netoxic
Ag+Ac
Uneori sensibilizare
Imunizat

Fig. 75: Fenomene imunologice majore faţă de **toxine** microbiene şi faţă de antigene netoxice.

(iv) *Richet* şi *Portier* (1902—1905) observau următorul fenomen în cursul unor experienţe de imunizare a cîinelui cu actinocongestină (o *toxină* extrasă din tentacule de actinie): unele animale, care supravieţuiau primelor administrări de actinocongestină, mureau la *reinjectarea* i.v. a unor doze total inofensive pentru animale noi, cu condiţia ca reinjectarea să fie făcută după 2—3 săptămîni de la prima. Ei au numit acest fenomen *anafilaxie**, contrar *profilaxiei* (adică apărării).

(v) Fenomene similare au fost înregistrate şi de alţi cercetători experimentînd, fie cu *proteine primar netoxice* (serumalbumine, lactalbumine, ovalbumine), fie cu toxine *(proteine cu toxicitate primară)*.

(vi) *Arthus* (1903) a descris un alt fenomen numit de el *anafilaxie locală*, obţinut pe iepure prin injectări s.c. repetate de ser de cal: după un număr de doze bine suportate, la locul injecţiei se constituie un infiltrat ce evoluează uneori pînă la necroză. Fenomene similare care pot apărea în orice ţesut sau organ sînt denumite azi *tip Arthus* (fig. 75).

2. PRIMELE FENOMENE DE SENSIBILIZARE DESCRISE LA OM

a) **Accidente serice**. Ca urmare a introducerii serului imun de cal în terapia şi profilaxia bolilor infecţioase (1893—1894), au fost observate la om diferite accidente similare celor experimentale:

(i) *Socul anafilactic* apare la indivizi *reinjectaţi* pe cale i.v. cu ser de cal; accidentul poate să apară, după un interval minim de 7—12 zile, ca şi după ani de zile de la prima injecţie. Este o manifestare dramatică care se instalează *imediat* (cu paloare extremă, anxietate, vărsături, sufocare, febră, tensiune scăzută, emisie spontană de urină şi scaun, stare sincopală). În mod obişnuit, simptomele durează cîteva minute şi dispar cu medicaţie antihistaminică şi adrenalinică. Moartea intervine excepţional.

(ii) *Boala serului* poate să apară după doză unică, dar foarte mare de ser de cal (Ag); se instalează la aproximativ 12 zile după injecţia terapeutică cu: edem pruriginos, artralgii, tumefierea ggl., uneori febră, albuminurie; manifestările sînt totdeauna benigne.

---

* De la *phylax* = gardă, sentinelă, apărare.

(iii) *Fenomene tip Arthus* locale apăreau uneori la reinjectări de ser în același loc, după minimum 12 zile de la prima doză (roșeață locală pruriginoasă, edem); injectări repetate pot duce la formarea unui pseudoflegmon necrotic, aseptic, la locul injecției.

Pe parcurs, *noi terapii au creat noi posibilități de vătămare a organismului prin Ac-Ag*: reacții de sensibilizare la medicamente hormonale, opoterapii, transfuzii incompatibile, antibiotice, șoc pirogenic ,,endotoxinic'' în terapia intensivă intravasculară, rejetul de transplant etc

b) **Fenomene naturale de sensibilizare.** Pe lîngă fenomenele clinice induse prin terapii-profilaxii, tot mai multe manifestări clinice naturale sînt explicate prin mecanisme asimilate fenomenelor de sensibilizare (boli alergice). Astfel de mecanisme au fost identificate întîi în boli infecțioase cu evoluții cronice, tuberculoză, bruceloză, sifilis, ca și în infecții prin bacili gram-negativ, cu ,,endotoxină'', și apoi prin Ag vegetale (febra de fîn), animale, haptene chimice diferite, factori fizici producători de alterări celulare.

Totalitatea fenomenelor clinice de sensibilizare alcătuiesc capitolul important, palpitant și omniprezent în patologie, **imunopatologia.**

Babeș și *Proca* sînt printre primii cercetători care au descris manifestările de sensibilizare în tuberculoză.

3. CONDIȚIA MAJORĂ A APARIȚIEI FENOMENELOR DE SENSIBILIZARE (FS)

Analiza acestor fenomene clinice și experimentale a scos în evidență că *apariția FS depinde de aceeași condiție majoră ca și imunitatea* antiinfecțioasă: întîlnirea Ag-Ac în organism.

În adevăr, apariția sensibilizărilor necesită cel puțin o *injecție preparantă* (stimulul Ag primar care induce elaborarea de Ac) și *injecția declanșantă* (după maximum 7—12 zile). Ac prezenți împreună cu noul aport de Ag permite formare rapidă și masivă de cupluri Ag-Ac; aceste cupluri, în *anumite proporții cantitative* și în *cantități mari* pot declanșa fenomene de boală. (Apariția bolii serului după unică injecție de Ag, serul de cal, se explică prin cantitatea foarte mare* de Ag injectată care, nefiind eliminat total pînă în momentul apariției de Ac, permite formarea de cupluri Ag-Ac cu exces de Ag, ,,toxice'').

4. TERMINOLOGIE

Fenomenele patologice care apar după contacte repetate cu același produs, toxic sau netoxic, infectant sau neinfectant, au fost numite *super-* sau *hipersensibilizări* (sau hipersensibilitate**).

---

* În scop terapeutic și profilactic, serul de cal hiperimunizant antitetanic sau antidifteric este injectat la om în cantități mari.

** În prezent cînd se cunosc mecanismele determinante, acest termen este tot mai puțin folosit deoarece *sensibilitate* definește capacitatea unui nerv sau organ terminal de a primi și transmite impulsuri: *sensibil* = capabil de a percepe prin simțuri (miros, văz etc.); *sensibilizare* este termenul care definește procesul prin care SCIC devine reactiv și hiperreactiv la o proteină-Ag.

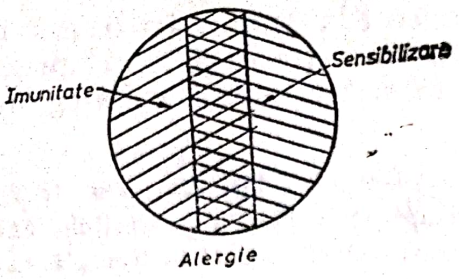


Fig. 76: Terminologie conformă conceptului inițial elaborat de *K. v. Pirquet*, 1906;

Alergie: reactivitate modificată, consecință a stimulării antigenice și apariției funcției-anticorp. *Imunitate*: reacție specifică de apărare. *Sensibilizare*: orice fenomen vătămător organismului declanșat și/sau întreținut de interacțiunea antigen-anticorp. *Fenomene de tip imunologic*: orice fenomen care decurge din interacțiune antigen-anticorp (celule specific sensibilizate sau imunoglobuline).

În 1906, *Karl v. Pirquet* intuia exact relația *imunitate-sensibilizare*, precizînd că *sensibilizarea este de asemenea de domeniul imunologiei, determinată de Ag-Ac*, că un organism imun este și sensibilizat la același Ag deoarece posedă Ac:

— caii lui *Behring* hiperimuni la toxină tetanică (capabili deci să suporte și să neutralizeze multe DLM* puteau muri rapid la o doză mică prin fenomene de hipersensibilizare (datorită aceleiași prezențe, a antitoxinei);

— cobaii cu TBC generalizată elimină prompt noii bacili inoculați (imunitate), cu formarea unui focar de necroză, distrugere de țesut (sensibilizare);

— actinocongestina imunizează și sensibilizează etc.

Pentru a sublinia unitatea acestor fenomene contrarii — cu consecințe diametral opuse pentru organismul în care au loc —, *v. Pirquet* scoate în evidență, alături de *cauza comună* (reacție Ag-Ac), și *manifestarea unică*: fie că răspunsul este de apărare sau boală, la *re*întîlnirea cu un Ag, organismul reacționează *altfel* decît la prima întîlnire *(în ambele cazuri răspunsul este modificat)*. Pentru a defini această unitate dialectică, *v. Pirquet* a creat termenul *alergie* cu sensul de *alt mod de reacție a organismului (allos* = altfel; *ergon* = acțiune, manifestare). Alergie înglobează toate tipurile de răspuns modificat, atît imunitate, cît și fenomene de sensibilizare (fig. 76).

Terminologia impusă de „uzaj" este însă uneori deviată de la cea etimologică; termenul *alergie* este folosit azi pentru desemnarea doar a fenomenelor de sensibilizare; corecturi care împacă dezideratul etimologic cu acela impus de uzaj:

sensibilizare alergică, termen folosit pentru indicarea fenomenelor de sensibilizare; hipersensibilizare, pentru fenomene foarte grave;

imunitate, termen reținut pentru desemnarea apărării specifice, prin Ac;

fenomen de tip imunologic (sau alergic), orice manifestare care este o consecință a cuplării Ag-Ac;

antigenul implicat în fenomen de sensibilizare este numit adeseori *alergen*, iar cel implicat în imunitate este numit *imunogen* sau *vaccin*;

termenii *autoalergic* sau *boala de autoagresiune* sînt de preferat termenului *autoimun*.

5. VARIAȚIA MANIFESTĂRILOR CLINICE DE SENSIBILIZARE, CONDIȚIONĂRI

Manifestările clinice de sensibilizare sînt foarte variate; variații impuse de:

a) **Localizarea Ag**; căile de pătrundere a hetero-Ag sau locurile de eliberare a auto-Ag pot fi foarte diferite și impun manifestări clinice diferite; pătrunderea pe calea vasculară induce *fenomene generale*, sistemice; prezența Ag într-un anumit sediu determină *fenomene locale* (dermice, mucoasă respiratorie, epiteliu respirator, mucoasă digestivă, SNC, ficat etc.).

---

* Doze letale minime.

b) **Cantitatea de Ag și Ac** influențează intensitatea și gravitatea fenomenelor; de aceste cantități depinde constituirea de cupluri în *anumite proporții nocive* (cu exces moderat de Ag). Aceste variații cantitative oferă posibilitatea de apariție a tuturor gradelor de intensitate; de la manifestări clinice minore, pînă la fenomene foarte grave, mortale (față de același Ag-Ac). Cel mai adesea (din fericire, cantitățile și raporturile Ag-Ac formate în organism sînt insuficiente pentru a declanșa simptome), *ele rămîn inaparente*. Ca urmare, chiar la persoane care au Ac, boala de sensibilizare apare foarte rar; deși fiecare individ face în cursul vieții sale infecții streptococice, procentul acelora care fac cardita reumatismală este destul de mic, iar a acelora care fac dintr-o dată boala mortală este și mai mic.

c) **Ritmul de pătrundere sau eliberare a Ag** în organism și, consecutiv, al apariției Ac, influențează evoluția bolii de sensibilizare; o unică doză poate declanșa un unic fenomen acut (de intensitate minoră sau grav); fenomenul poate să reapară cu fiecare nouă pătrundere (cazul alergenelor alimentare, respiratorii), febra de fîn apare odată cu primăvara și polenurile; o persoană sensibilizată la penicilină poate face șoc mortal sau fenomene minore repetate dacă antibioticul este refolosit (!); în cazul auto-Ag apariția auto-Ac constituie factorul care mediază leziunile tisulare și, astfel, autoîntreține fenomenele patologice etc.

d) **Natura antigenului**; în principiu, orice Ag poate declanșa fenomene de sensibilizare, dar acestea variază ca manifestare și în raport cu proprietățile Ag, cu originea lui; referindu-ne la Ag micobiene: *Mycoplasma*, *Mycobacterium tuberculosis*, fungi care dau de predilecție infecții pulmonare induc grave *fenomene de sensibilizare în pulmon*; rickettsiile cu specificitate de înmulțire în celulele endoteliilor vasculare dau fenomene de sensibilizare vasculare etc.

e) **Natura anticorpului** implicat în mod special este, de asemenea, la originea unor mari variații de mecanism patogenetic și simptomatologic, aspecte descrise în următorul capitol.

B. CLASIFICARE ÎN RAPORT CU ANTICORPUL IMPLICAT ȘI CU MECANISMUL DECLANȘANT

Datorită atîtor factori de condiționare, o profuziune de manifestări clinice se pot crea, același Ag fiind implicat în tablouri clinice variate; ca urmare, numeroase sindrome și entități clinice au fost și mai sînt descrise sub diferite denumiri.

Totuși, indiferent care este Ag* (factorul etiologic), toate fenomenele de sensibilizare pot fi încadrate în cîteva mecanisme patogenetice; cea mai acceptată este sistematizarea care aparține lui *Gell* și *Coombs* în

---

* Hetero-, -izo- sau autoantigen; antigen microbian, vegetal, animal, hapten chimic; oricare ar fi agentul care induce eliberare sau apariție de autoantigene.

4 mecanisme majore: I, II, III (a, b) și IV, ilustrate în figura 77. Reacțiile I, II și III sînt mediate de Ig și dau fenomene de *tip imediat*; reacțiile tip IV sînt mediate de celule (Lss, M.) și dau fenomene de *tip întîrziat* (tabel 35).

Tabelul 35

Clasificarea mecanismelor de sensibilizare alergică, în raport de anticorpii determinanți

Reacții de *tip imediat* (umoral)	prin reagine	Reacții tip I, anafilactice	transfer pasiv prin ser, numai la om (greu)
	prin anticorpi circulanți (IgG, M, A)	Reacții tip II, citotoxic-citolitice (IgM, G)	transfer prin ser, la om și animale
		Reacții tip III: tip „Arthus" (IgG) tip „boala serului" (IgG, M, A)	
Reacții de *tip întîrziat* (celular)	prin limfocite-T și macrofage	Reacții tip IV „tuberculinic"	transfer prin monocite (L, M).

1. REACȚIA DE SENSIBILIZARE TIP 1, ANAFILACTIC

(fig. 77, I)

Este numită *anafilactică* sau *tip I* orice reacție de sensibilizare mediată de reagine*, IgE.

S-a văzut că IgE diferă de alte Ig prin proprietatea de a se fixa pe suprafața unor celule care devin astfel pasiv sensibilizate: bazofile tisulare, *mastocite*, și sangvine, *PN-bazofile***.

Antigenul pătruns se cuplează pe sediile Ac ale reaginelor direct pe suprafața acestor celule, ceea ce determină alterări de membrană urmate de degranulare cu eliberare de amine vasoactive, histamină, serotonină, heparină, bradichinină („anafilatoxine"), responsabile de semnele propriu-zise de boală: *dilatarea capilarelor* (cu edem și scăderea presiunii sangvine etc.), *contracția mușchilor netezi* (constricția bronșiolelor, sufocație etc.). Aceste fenomene sînt parțial inhibate de antihistaminice.

Aceste sensibilizări sînt numite *anafilaxii*, deoarece prima manifestare cu acest mecanism a fost *șocul anafilactic* descris de *Richet* și *Portier*; penicilina poate provoca șoc anafilactic.

Intensitatea fenomenelor este condiționată de calea de pătrundere și cantitatea de Ag și de cantitatea de celule sensibilizate prin IgE*** existente în organism (factori de care depinde numărul de celule alterate, cantitatea de amine vasoactive eliberate etc.).

---

* Unii cercetători consideră că și unele subtipuri de IgG (gama$_1$ și gama$_2$) au de asemenea sedii de fixare pe mastocite și bazofile sangvine și, ca urmare, capacitate de a media eliberarea de histamină.

** După unii cercetători și pe alte celule, ca celulele endoteliale vasculare.

*** Predispoziția unor indivizi *(atopici)* pentru fenomene de sensibilizare tip I este explicată pe baze genetice: fie dotare cu o capacitate deosebită de a sintetiza IgE, fie cu bazofile îndeosebi purtătoare de sedii de fixare a reaginelor; iar apariția acestor manifestări la o anumită vîrstă, prin modificări genetice de tip mutațional. Atopic, de la *atopos* = neobișnuit, *deosebit*.

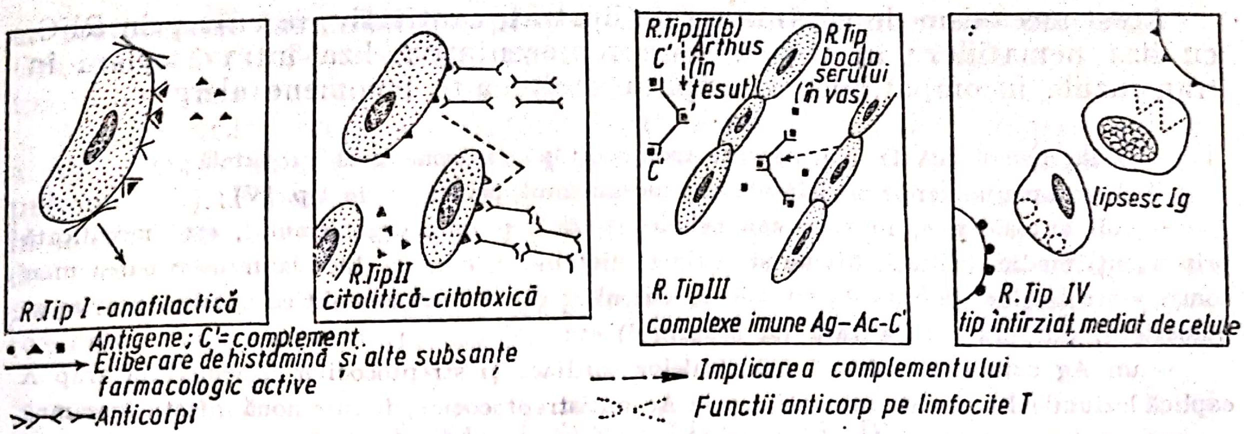

R.Tip I-anafilactică
R.Tip II
citolitică-citotoxică
R.Tip III(b)
C'
Arthus
(în
țesut)
C'
R.Tip
boala
serului
(în vas)
R. Tip III
complexe imune Ag–Ac–C'
lipsesc Ig
R.Tip IV
tip întîrziat mediat de celule
Antigene; C'=complement.
Eliberare de histamină și alte subsanțe farmacologic active
Anticorpi
Implicarea complementului
Functii anticorp pe limfocite T

Fig. 77 : **Ilustrarea celor 4 tipuri de mecanisme ale reacțiilor alergice care pot vătăma organismul. (După *Gell* și *Coombs*, 1968).**

Se descriu, astfel, manifestări *generale*, șocul anafilactic, uneori mortal, și anafilaxii *locale*, la nivele diferite: TRS (rinită), TRI (astm), mucoasă digestivă (colită), tegumente (dermita atopică, urticaria) etc.

Participarea Ag microbiene în anafilaxii nu este în general recunoscută; numeroase date patogenetice par să demonstreze însă un paralelism deosebit între șocul anafilactic și principalele componente patogenetice ale șocului „endotoxinic".

2. REACȚIA DE SENSIBILIZARE TIP II, CITOTOXIC-CITOLITIC (fig. 77, II)

Imunoglobulinele reacționează cu *Ag celulare de suprafață*, permițînd cel mai adesea și fixarea complementului care joacă rolul distructiv major al celulei-țintă (purtătoare de Ag).

Antigenul sensibilizant (responsabil de apariția fenomenului patologic) este un component celular de suprafață: (i) fie Ag propriu celulei, ca în cazul hematiilor în transfuziile incompatibile, sau în cazul unor auto-Ag, (ex. neuron), (ii) fie hetero-Ag ori hapten intim atașat la celulă, sau apărut ca urmare a alterărilor microbiene, chimice etc.

Celula purtătoare de Ag este „ținta" și poate fi o celulă circulantă sau tisulară; (tot aici sînt încadrate și alterări prin cuplarea Ac pe Ag tisulare de membrane necelulare, probabil și colagen).

Locul jucat de enzimele și toxinele bacteriene, de microorganismele intracelulare în modificarea specificității antigenelor în organismele infectate și, prin aceasta, în inducerea de fenomene citotoxice-citolitice pare să fie foarte important.

Anticorpul este IgG și IgM care se cuplează cu determinanții Ag celulari permițînd fixarea *complementului* cu efect citotoxic-citolitic (necrotic).

Intensitatea leziunilor (gravitatea bolii) este explicată prin doza de C' fixată, dependentă de doze și raport Ag-Ac; doze sublitice de Ac și C', în loc să determine leziuni litice-necrotice, produc modificări minore, uneori numai funcționale.

Acest mecanism de vătămare este ilustrat, cantitativ, *in vitro* prin RFC, cu liza hematiilor; în clinică, este reprezentativă liza intravasculară în transfuziile incompatibile; el explică multe alte fenomene alergice:

— boala hemolitică la nou născut, trombocitopenia izoalergică neonatală;

— eliminarea allogrefelor (alături de mecanismul principal de tip IV);

— boli autoalergice, în care caz celula „ţintă”, proprie organismului, este modificată prin agenţi medicamentoşi, toxine şi enzime microbiene, ceea ce duce la transformarea unor componente celulare în auto-Ag: tiroidita autoalergică, anemia hemolitică autoalergică, agranulocitoza, purpura generalizată (la sedormid) etc.

— un Ag comun sarcolemei miofibrilelor cardiace şi streptococilor β-hemolitici grup A explică leziunile din cardita reumatică prin Ac antistreptococici; fiecare nouă infecţie înseamnă o nouă creştere a titrului Ac şi, eventual, o agravare a leziunilor.

3. REACŢIA DE SENSIBILIZARE TIP III, SINDROMUL COMPLEXELOR „TOXICE“

(fig. 77, III)

Complexele Ag-Ac formate în anumite proporții, cu moderat exces de Ag, s-au demonstrat vătămătoare („toxice”) pentru țesuturi, cu sau fără fixarea C′; formarea lor poate avea loc (a) fie în curentul sangvin, complexe circulante solubile care, depozitîndu-se pe pereții vaselor, inițiază inflamații ca în *sindromul bolii serului*, (b) fie în spațiile tisulare în jurul vaselor mici determinînd alterarea celulelor din zona respectivă ca în *fenomenul Arthus*. Fixarea de C′ intensifică fenomenele patologice.

a) **Fenomen tip boala serului (general, sistemic)**. Cînd mari cantități de Ag solubil se eliberează sau ajung în circulație, cuplurile se formează pe măsura eliberării Ig (IgG, IgM), întrunind uneori raporturile „optime” pentru determinarea leziunilor: complexe Ag-Ac cu moderat exces de Ag. Aceste complexe se depun pe pereții vaselor sangvine și/sau pe membrana bazală glomerulară unde determină modificări funcționale, iar uneori inițiază alterări; formate intravascular, ele migrează, dilată vasul, favorizînd marginația plachetelor, coagulare intravasculară. Fixarea și activarea enzimelor-complement este responsabilă de permeabilizarea vaselor, extravazare, inflamație perivasculară (v. pag. 259 și 270).

Fenomenele tip boala serului pot fi date de variate Ag (seruri terapeutice, medicamente, Ag microbiene) și pot varia de la minore, trecătoare, pînă la tromboze vasculare cu necroze consecutive foarte grave; dau manifestări generale în care predomină vasculite și glomerulonefrite; este mecanismul major în glomerulonefrita acută poststreptococică.

b) **Fenomen tip Arthus (local)**. Interacțiunea Ag cu Ac are loc în țesuturi, interstiții celulare, cu formare de microprecipitate care se depun, cel mai adesea, în jurul vaselor mici (din care extravazează IgG) și unde determină reacții inflamatorii cu PN, edem, hemoragii, uneori pînă la necroze. Acest fenomen are loc cînd mari cantități de Ac sînt prezente în circulație, difuzînd și extracelular (IgG), iar concentrații mari de Ag există (ca auto-Ag) sau ajung într-un sediu tisular de unde difuzează, Ag și Ac întîlnindu-se în țesuturi într-un gradient de concentrații, cu posibilitatea întrunirii și a proporțiilor nocive, iritante, *cu exces de* Ag. Gravitatea leziunilor este în raport cu cantitatea de complexe ,,toxice'' formate și cantitatea de complement astfel activat.

Manifestările clinice tip Arthus variază mult cu calea de pătrundere a Ag (derm și subderm, mucoasă și submucoasă respiratorie, intestinală, pulmon . . .). Fenomen Arthus tipic apare ca urmare a injecțiilor repetate în aceeași zonă de substanțe Ag (seruri terapeutice, insulină); formarea de microprecipitate Ag-Ac în țesuturi este discutată astăzi în *colagenoze, periartrite.* Pare să fie mecanismul principal în fenomene locale prin ,,endotoxinele'' bacteriilor gram-negativ.

4. REACȚIA DE SENSIBILIZARE TIP IV, MEDIATA DE CELULE

(fig. 77, IV)

Acest tip de alergie este cunoscut sub denumiri ca, *sensibilizare de tip întîrziat, tuberculinic, bacterian,* deoarece numeroase fenomene alergice de etiologie microbiană au loc prin acest mecanism, primele descrise fiind *fenomenul Koch* și *reacția la tuberculină.*

Fenomene de sensibilizare mediate de celule au loc față de bacterii facultativ intracelulare și microorganisme obligatoriu intracelulare, virusuri, chlamidii, rickettsii, unele protozoare și fungi (celule tisulare purtătoare de auto-Ag dînd boli de autoagresiune ca dermatitele de contact, considerat mecanismul principal în rejetul homogrefelor).

Fenomenul este inițiat de limfocite-T specific sensibilizate care reacționează direct cu Antigenul prezent în unul sau mai multe sedii tisulare și este caracterizat de *infiltratul monocitar.* Etapele formării infiltratului sînt identice cu acelea descrise în IMC (cap. XIX), diferențele constînd în intensitatea și evoluția procesului; infiltratul devine clinic manifest, patologic. Uneori astfel de infiltrate se resorb repede, cum sînt diferitele enanteme și exanteme care apar în cursul evoluției unor boli infecțioase; alteori reacția este violentă, masivitatea infiltratului înlocuiește țesutul normal, stînjenește funcții ale țesutului-organului; cantitatea mare de mediatori limfocitari eliberați duce la leziuni celulare care pot ajunge pînă la necroză ca în tuberculoză. La acestea se adaugă blocaj vascular, prin tromboze, care intensifică procesul de necroză. Este demonstrat că însăși limfocitul-T numit killer, poate determina liza directă a unor celule țintă purtătoare de Ag (fig. 71).

Astfel de reacții imunologice, inflamatorii monocitare, reprezintă expresia majoră a cronicizării bolilor infecțioase.

În încheiere, subliniem că în toate fenomenele de sensibilizare poate fi descoperit un *mecanism inițial* și că adeseori unul singur din aceste mecanisme este dominant în determinarea bolii (ca în TBC), dar, în numeroase cazuri, pe parcursul dezvoltării sindromului patologic se pot asocia mai multe mecanisme; fenomene de tip Arthus se suprapun adesea cu tip IV.

În plus, ca și în imunitate, mecanismele imunologice nu le anulează pe cele nespecifice constituționale ci cooperează cu ele; activarea macrofagului prin Lss nu anulează mobilizarea în focar a PN, ci cooperează cu ele în determinarea bolii, intensificînd procesul inflamator și necroza.

C. FENOMENE DE SENSIBILIZARE (FS) CU ETIOLOGIE BACTERIANĂ

Capacitatea microbilor de a determina sensibilizări este numită și *alterare sau „toxicitate" secundară* pentru a o diferenția de infecție și intoxicație, care sînt alterări primare.

Deoarece simptomele datorate FS se suprapun sau urmează acelora determinate de infecție sau toxiinfecție, deslușirea mecanismelor producătoare este adeseori mai dificilă decît în boli de sensibilizare, de etiologie neinfecțioasă. Pe de altă parte, numărul de Ag și haptene prezente într-un corpuscul microbian, sau eliberate prin metabolism, este foarte mare încît identificarea antigenului (-lor) sensibilizant este o problemă uneori foarte dificilă și, ca urmare, și elucidarea mecanismului de sensibilizare. Motive pentru care, termenii „probabil", „s-ar putea", „s-ar părea", intervin adesea în explicarea patogeniei acestor boli.

1. SENSIBILIZĂRI BACTERIENE DE TIP ÎNTÎRZIAT

Mai bine studiate sînt unele FS în boli date mai ales de bacterii facultativ intracelulare: *Myc. tuberculosis, Myc. leprae, Brucella, Listeria monocytogenes* etc. Mecanismul de producere a acestora se încadrează în mecanismul de tip celular (IV, *întîrizat*), exemplificat prin *fenomenul Koch* și *reacția la tuberculină.*

Fenomenul Koch (pag. 279). După inocularea infectantă a cobaiului care duce la infecție generalizată, în organism au loc și toate modificările care determină apariția de Lss. Repătrunderea bacilului *poate fi inaparentă,* cînd cantitatea de Ag este mică și numărul celulelor mobilizate este redus; cantitățile mari de Ag determină *fenomene inflamatorii clinic manifeste,* dăunătoare organismului; astfel de fenomene inflamatorii caracterizează boala tuberculoasă (cap. XXXII).

Reacția la tuberculină. Tuberculina este o proteină extrasă din bacilul Koch; ea este netoxică pentru organismul normal, dar „toxică" pentru organismul tuberculizat cu cel puțin 4—5 săptămîni anterior, în care există Lss. Injectată în organism tuberculos, în raport cu doza injectată, tuberculina poate determina fie numai *fenomene locale* (papulă, eritem sau necroză), fie și *fenomene focale* (congestie violentă, uneori hemoragii în focarele de tuberculoză existente) și chiar *fenomene generale,* care pot duce la moartea animalului (în determinarea șocului tuberculinic, fenomen general, intervin și reacții de tip umoral imediat).

Tuberculoza-boală este o manifestare clinică determinată de suprapunerea la semnele de infecție și a fenomenelor de sensibilizare în care domină reacții mediate de celule: infiltrat monocitar, necroză, cavernă tuberculoasă.

2. SENSIBILIZĂRI LA ANTIGENE STREPTOCOCICE

Streptococii beta-hemolitici grup A sînt bacterii cu înaltă capacitate de sensibilizare a organismului uman, determinînd boli grave ca reumatismul articular acut (RAA), glomerulonefrita acută (GNA) și cardita reumatismală (CR). Mecanismul principal de producere al GNA este prin „complexe toxice” (tip III, boala serului), reținute pe membrana bazală glomerulară; alterările acestei membrane, care duc la ieșirea proteinelor sangvine în urină, s-ar datora fixării și activării complementului; antigenele sensibilizante, nefritogen și reumatogen, sînt încă discutate (cap. XXII).

3. REACȚII LA „ENDOTOXINĂ” („E”)

Deși fenomene clinice și experimentale la „endotoxine” au fost descrise anterior identificării lor chimice (1933), cercetătorii nu au căzut încă de acord asupra naturii mecanismelor determinante.

„Endotoxinele” sînt componente structurale ale pereților bacteriilor gram-negativ făcînd parte din straturile speciale superficiale (ele corespund în parte antigenului de perete „O”); sînt prezente la toți bacilii și cocobacilii gram-negativ.

Deși numite inițial endotoxine (pentru a le diferenția de exotoxinele propriu-zise, secretate extracelular), mulți cercetători sînt de acord că aceste structuri sînt lipsite de toxicitate intrinsecă primară: ca și *tuberculina*, ele sînt toxice pentru organismul deja sensibilizat, care a mai venit în contact cu „E”, toxicitatea lor fiind secundară (prin contact cu anticorpii specifici).

Natura chimică a „E”. Extracția bacteriilor gram-negativ cu acid tricloracetic a permis izolarea unui complex macromolecular format din lipide, polizaharide și proteine, „complexul glucido-lipido-polipeptidic” descris inițial de *Boivin și Mesrobeanu*; ulterior complexul a fost purificat de lipidul B ușor detașabil și separate diferite componente, *proteină*, *polizaharid*, *lipid* (fig. 101) și au putut fi studiate „responsabilitățile” lor imunologice și imunopatologice.

Proteina asigură întreaga *capacitate imunogenică a* complexului de a induce apariția de Ac celulari și umorali, avînd specificitate antigenică redusă de la specie la specie.

Polizaharidul, prin zona lui distală, structura de suprafață, deține marea specificitate *antigenică* a complexului somatic „O” la bacilii gram-negativ. Pentru grupul *Salmonella*, de exemplu, care din punct de vedere Ag se împarte în sute de tipuri și subtipuri, s-a demonstrat, pe baza analizei produselor de hidroliză a polizaharidului, că marea diversitate antigenică își are corespondentul în diversitatea de structură a zonei distale a acestuia: „chemotipurile” (diferite între ele prin *pattern*-ul de structură al polizaharidului) corespund „serotipurilor” antigenice.

Lipidul împreună cu *partea proximală comună a polizaharidului* alcătuiesc *lipopolizaharidul* (LPS) care corespunde „endotoxinei”, *factorul sensibilizant* major al complexului; el este lipsit total sau aproape total de antigenitate proprie și este identic sau aproape identic la numeroase bacterii. Se explică astfel, de ce efectele produse de „endotoxină” sînt calitativ aceleași, indiferent de specia din care sînt extrase, de ce alergizări inițiate de o bacterie pot fi declanșate și de altă bacterie (fenomenele *Sanarelli*, *Schwartzman*).

În consecință, complexul glucido-lipido-proteic, așa cum este el prezent în peretele bacterian, este acela care prepară, alergizează organismul. Pentru *declanșarea* fenomenelor patologice este suficient numai un hapten (lipidul) sau complex de haptene, LPS, reala „endotoxină".

Această comportare se aseamănă cu aceea a tuberculinei: proteină (cu gr. mol. mică) incapabilă de a declanșa reacții în organism normal, ea poate declanșa reacții de sensibilizare în organismul deja sensibilizat de complexul antigenic din care face parte, bacilul Koch. Ca și tuberculina care determină reacția pozitivă, indiferent de specia de *Mycobacterium* infectant (uman, bovin, aviar), tot astfel, „endotoxina" declanșează reacția de sensibilizare indiferent care a fost bacilul gram-negativ infectant: experiențele au demonstrat că organismul în care sînt prezenți anticorpi față de LPS (endotoxina) răspunde la numeroase alte „E" ale marelui grup de bacterii gram-negativ (prin fenomene imunopatologice de intensități variabile).

Fenomene experimentale la „Endotoxină"

Inocularea de bacili gram-negativ omorîți, de pereți celulari sau de „E" purificate, la animale de experiență, este urmată de o suită de simptome foarte caracteristice. În raport cu doza și calea de administrare, acestea se pot manifesta ca simple *reacții pirogene, leucopenii, manifestări cutanate,* sau ca *reacții generale grave,* șoc, moarte. La necropsie se constată necroza corticalei renale. Faptul că o astfel de reacție, caracteristică fenomenului de sensibilizare după injecția „declanșantă", poate avec loc după o unică injecție cu „E", demonstrează că apariția Ac are loc în mod ocult pentru orice organism animal, datorat microinfecțiilor cu b. gram-negativ aparținînd florei normale a intestinului și absorbției de antigene lipido-glucido-polipeptidice eliberate în intestin prin liza bacteriilor.

Efectele produse de primo-inocularea experimentală de „E" seamănă cu efectele produse de inocularea altor antigene la animal deja sensibilizat, iar efectele produse de toate „endotoxinele" sînt calitativ aceleași.

Această explicație patogenică dată reacțiilor la „endotoxină" este întărită de rezultatele experiențelor pe animale *germ-free*: deși *germ-free* nu înseamnă și *antigen-free,* totuși șoareci crescuți în condiții de sterilitate, al căror intestin nu este populat de bacterii, cel mai adesea nu fac fenomene patologice cînd sînt injectați cu „endotoxină", spre deosebire de animalele crescute în condiții normale (la care popularea intestinului cu bacterii începe la naștere). Pe de altă parte, popularea intestinului șoarecilor *germ-free* cu bacterii gram-negativ le conferă prompt susceptibilitatea la „E".

Se poate conclude că *sindromele declanșate de „endotoxine" sînt mediate de Ac* care apar ocult (așa-numiții *„anticorpi naturali"*).

Aceleaşi mecanisme explică fenomenele descrise de *Sanarelli* şi *Schwartzman* care, insuficient înţelese în 1924—1936, au fost numite „para" sau „heteroalergii".

Fenomenul Sanarelli (1924) : inocularea i.v. la iepure de doze subletale de vibrion holeric*, urmată la 24 de ore de o injecţie i.v. cu filtratul unei culturi de colibacil sau *Proteus* etc. produce moartea rapidă a animalului cu fenomene generale caracteristice : reacţii hemoragice şi necrotice prezente în special la nivelul mucoasei intestinale şi în corticala renală.

Interpretare : *prima inoculare* de vibrion holeric găseşte organismul gata sensibilizat prin infecţiile oculte cu b. gram-negativ şi induce o reacţie „tip secundar" cu creşterea rapidă a Ac ; *a doua inoculare*, cu o altă „endotoxină", după 24 de ore, constituie aportul de Ag necesar formării de complexe Ag-Ac în cantitate masivă şi astfel foarte nocive (fenomen tip boala serului).

Fenomenul Schwartzman (1936) : injectarea i.d. la iepure, de filtrat de cultură de *S. typhi* (sau oricare altă b. gram-negativ), urmată la 24 de ore de o injecţie i.v. cu acelaşi filtrat (sau filtrat de alt b. gram-negativ), are ca rezultat hemoragie şi necroză la locul injecţiei primare intradermice.

Interpretare: introducerea iniţială a Ag în derm, cu difuzare lentă, permite ca Ac masiv eliberaţi după injecţia i.v. să realizeze reacţia Ag-Ac în special la locul injecţiei intradermice.

Posibilităţile de a determina reacţii de sensibilizare prin injecţii care se succed la interval de numai 24 de ore nu pot fi explicate decît prin sensibilizări oculte, anterioare. Faptul că reacţia poate fi produsă cu Ag diferite (la prima şi la a doua injecţie) se explică prin aceea că :

— flora intestinală, foarte variată şi variabilă în timp, cuprinde şi un larg spectru de specii gram-negativ ;

— bacteriile gram-negativ posedă multe haptene comune (complexul LPS), fiind capabile de numeroase reacţii Ag-Ac încrucişate ;

— factorul responsabil de reacţiile de sensibilizare este lipopolizaharidul (din complexul natural glucido-lipido-polipeptidic), şi în special lipidul, similar la diferiţii b. gram-negativ.

FENOMENE CLINICE LA „ENDOTOXINĂ"

Se descriu sindrome patologice prin „endotoxină", cu cele mai variate localizări şi intensităţi ; ele pot însoţi (i) *infecţii date de b. gram-negativ*, mai ales septicemii şi bacteriemii, (ii) *absorbţii posttraumatice de „endotoxină"* din intestin.

---

* *Sanarelli* a experimentat cu o tulpină de vibrion holeric obţinută în 1923 de la *Mihai Ciucă*, Facultatea de Medicină din Iaşi.

Intensitatea lor rezultă din gradul de sensibilizare a organismului (anticorpi prezenți), cantitatea de ,,endotoxină'' eliberată sau pătrunsă și locul unde s-a eliberat (uter, peritoneu, circulație). Ca urmare, sindromele imunopatologice la ,,E'' pot fi:

— *sistemice*, ca șocul endotoxinic (infecțios) sau șocul pirogenic (medicamentos) și

— *localizate, necrotice*, tip III *Arthus* sau/și tip IV, celular (fie la poarta de intrare, fie în sedii tisulare profunde în focare de infecție secundare).

Cel mai adesea, prezența imunglobulinelor și a limfocitelor-macrofagelor cu activitate specificată realizează o permanentă asanare a organismului de bacteriile gram-negativ sau ,,endotoxinele'' eventual pătrunse în țesuturi și umori, făcînd imposibilă acumularea celor două elemente în proporții nocive. De aceea, fenomenele patologice la ,,endotoxină'' apar rar.

Există preocuparea *prevenirii șocului* și altor reacții nocive prin măsurarea cantității de ,,endotoxină'' în ser, l. c. r., vaccinuri etc.; se pun unele speranțe din acest punct de vedere în testul de gelificare a limulinei (un extract de amoebocite de *Limulus polyphemus*), printr-un mecanism insuficient cunoscut.

Șocul pirogenic medicamentos (prin soluții perfuzate i. v., injecții de ser glucozat etc.) este de asemenea identificat cu șocul ,,endotoxinic'', ,,pirogenii'' fiind identificați cu lipopolizaharidele bacteriilor gram-negativ.

Prevenirea șocului pirogenic constă în:

— introducerea metodologiei lucrului aseptic în prepararea soluțiilor injectabile (prevenirea contaminării și înmulțirii bacteriilor în medicamente);

— controlul gradului de pirogenitate (conținutul în ,,endotoxină'') prin testul biologic pe iepure, sau testul la limulină, anterior distribuirii în spitale și farmacii;

— depirogenarea produsului finit (dacă este cazul).

D. TESTE DE DIAGNOSTIC ALE STĂRILOR DE SENSIBILIZARE

Terapia etiologică a bolilor de sensibilizare necesită (i) identificarea agentului etiologic (antigenul sensibilizant) și (ii) a mecanismului imunopatologic (tip I, II, III, IV sau mixt). În ambele scopuri se folosesc reacții Ag-Ac *in vivo* și *in vitro* (vezi și cap. XLVII).

1. TESTE IN VIVO

Teste de sensibilizare activă

Cele mai folosite sînt testele de *sensibilizare activă*, prin *injectarea* intradermică sau *depunerea* Ag pe tegumentul bolnavului (testul plasturelui); cînd Ac este prezent, la locul de injectare a alergenului apare o *reacție pozi-*

tivă eritematoasă care marchează întîlnirea Ag + Ac; lipsa Ac dă reacţii negative. Pentru executarea testelor pot fi folosite atît antigene cît şi haptene, numite generic „alergene".

Selectarea alergenelor care urmează să fie testate se face pe baza anamnezei şi a examenului clinic; în cazul terapiilor cu substanţe cunoscute ca alergizante, alergenul de testat este însuşi medicamentul, antibiotic, ser imun etc.

Pentru diagnosticul sensibilizărilor de etiologie microbiană se folosesc, după caz, suspensii microbiene omorîte, extracte, filtrate de culturi (brucelina, tularina, maleina); cînd alergenul este bine identificat (din totalitatea structurilor celulare sau excretate) se foloseşte substanţă purificată cum este cazul tuberculinei bacilului Koch (o proteină bine caracterizată). Utilizarea antigenelor nepurificate determină adesea reacţii mixte, false.

Aceste teste identifică şi alergenul şi mecanismul imunopatologic major, umoral sau celular.

Test de sensibilizare activă intradermic (i. d. r.)

Alergenul este injectat în volum de 0,1 ml conţinînd o *unitate reacţională cutanată** sau unitate test (UT): cea mai mică doză de Ag capabilă să determine *exclusiv* reacţie locală cutanată**.

În cazul substanţelor presupuse alergizante, dar care nu sînt prezente în trusa de alergene pentru diagnostic, pentru care nu se cunoaşte deci unitatea reacţională cutanată, acestea pot fi testate cu grija de a nu depăşi această doză: se practică o primă i. d. r. din diluţia 1/10.000; dacă reacţia este negativă, se repetă cu diluţii tot mai mici (1/1000, 1/100, 1/10) pînă la folosirea substanţei nediluate.

Citire. În sensibilizările de *tip imediat* testul se pozitivează după prima jumătate de oră: apare o papulă eritematoasă, cu margini neregulate, difuze, care dispare repede. În sensibilizări de *tip întîrziat* testul se pozitivează după 24—48 ore şi chiar mai mult, ca o infiltraţie bine delimitată care durează cîteva zile. Există şi reacţii mixte.

Un test negativ la Ag nediluat, cînd acesta este o substanţă terapeutică (ser imun, de exemplu) permite utilizarea lui în cantităţile necesare terapiei; un test pozitiv, impune înlocuirea ori de cîte ori este posibil (antibiotic) sau desensibilizarea după metoda *Besredka* (ca în cazul serurilor terapeutice).

Transferul pasiv al stării de sensibilizare

(i) *Transfer de reagine* (IgE). Cantitatea mică de Ig E în ser, face ca transferul pasiv al reaginelor la animal să nu dea rezultate în stările de anafilaxie (tip I). Acest transfer este posibil însă la om.

---

* STD = skin test dosis (doză test cutanată).

** Fără *reacţie generală* (care ar putea fi declanşată de doze prea mari, în boli sistemice, în care Ag poate fi prezent în numeroase sedii din organism, sau difuzează de la locul infecţiei) şi fără *reacţii focale* (care ar putea avea loc la sediul fenomenului de sensibilizare pe care urmează să-l diagnosticăm, tuberculoză pulmonară, bruceloză, astm bronşic etc.).

Testul Prausnitz-Küstner: 0,1 ml ser de bolnav este injectat subcutanat la un individ normal; Ag presupus sensibilizant este injectat în acelaşi loc, precum şi într-un alt loc martor. Reacţia pozitivă la locul injecţiei ambelor elemente şi negativă la martor demonstrează că bolnavul este sensibilizat la antigenul testat[*].

(ii) *Transfer de anticorpi circulanţi* (IgG, IgM).

Stările de sensibilizare (tip II şi III) pot fi transferate la animal prin ser; se foloseşte de obicei cobaiul. Tehnica reacţiei urmează modelul testului *Prausnitz-Küstner*. Se utilizează multe alte variante de reacţii de transfer pasiv (teste cu valoare experimentală).

(iii) *Transfer de celule*; transferul pasiv al stărilor de sensibilizare de tip întîrziat (tip IV) este posibil numai prin intermediul monocitelor. Testarea animalului care a primit monocite (Lss şi M) de la bolnav se face cu Ag presupus sensibilizant.

2. TESTE IN VITRO

Teste serologice pentru depistarea alergenului

Serul bolnavului este pus în prezenţa Ag probabil sensibilizant în oricare din reacţiile Ag-Ac folosite şi pentru diagnosticul infecţiilor: *precipitare, aglutinare, fixare de complement, aglutinare pasivă, teste de imunfluorescenţă* etc. Reacţia pozitivă demonstrează prezenţa anticorpilor specifici antigenului folosit.

Aceste teste demonstrează totodată că în determinarea stării de sensibilizare este implicat un mecanism de tip imediat, prin Ig.

Teste cu monocite, pentru diagnosticul sensibilizărilor de tip întîrziat

În acest scop sînt necesare culturi de limfomacrofage provenite de la bolnav:

— *testul de inhibare al migrării limfo-macrofagelor:* migrarea normală a macrofagelor, care are loc în culturi celulare, este inhibată în prezenţa Ag sensibilizant (fig. 72);

— *testul de transformare blastică a limfocitului*: limfocite de la bolnavul sensibilizat intră în transformare blastică în prezenţa Ag sensibilizant. (Reacţii similare transformărilor care au loc în organism.)

În interpretarea acestor teste, atît cele *in vitro* cît şi cele *in vivo*, nu trebuie uitat că prezenţa Ac celulari şi umorali nu corespunde obligatoriu unei stări de boală; de aceea, ca şi în diagnosticul infecţiilor, reacţiile serologice se execută cantitativ şi în dinamică (pe mai multe prize de ser).

---

[*] Practicarea acestui test nu este permisă din cauza posibilităţii transmiterii virusului hepatitei B.

E. PROFILAXIA STĂRILOR DE SENSIBILIZARE

a) **Evitarea contactului cu alergenul** față de care organismul este sensibilizat (microb ca și alimente, polenuri, substanțe chimice, medicamente) este metoda cea mai eficientă dar presupune cunoașterea alergenului și posibilitatea de a-l evita, ceea ce nu este totdeauna ușor. În sensibilizări microbiene aceasta înseamnă evitarea contaminării sau terapie precoce (v. cap. XXII).

b) **Vaccinarea** cu doze mici de vaccin permite prevenirea infecției și, prin aceasta, și a complicațiilor alergice care pot să apară în cursul infecției sau pot evolua postinfecție.

c) **Evitarea șocului pirogenic medicamentos** înseamnă folosirea de *medicamente injectabile apirogene* sau depirogenate, fără endotoxină.

d) **Tratament precoce antiinfecțios**; în infecțiile în care sensibilizarea apare ca o complicație tardivă (sifilis, t. b. c., bruceloză) sau postinfecțioasă (reumatismul articular acut, cardita și glomerulonefrita poststreptococică); profilaxia sensibilizării (faza cea mai gravă a bolii) constă în terapia precoce a infecției. Aceasta presupune organizarea de laboratoare de microbiologie pentru depistarea precoce a acestora.

e) **Desensibilizarea** este profilaxia imunologic specifică. Utilizată cînd se impune un tratament cu o substanță la care bolnavul este sensibilizat și care nu poate fi evitată, ca serul de cal în terapia tetanosului. În acest scop, se practică în prealabil o i. d. r. de depistare a stării de sensibilizare. În cazul reacției pozitive, se începe desensibilizare „*tip Besredka*": injectarea antigenului pe cale intradermică și apoi subcutanată, în doze și volume mici, 0,1—0,2 ml, începînd cu volumul și diluția la care testul de depistare i. d. a dat reacție pozitivă; se repetă injecțiile la intervale de 20—30 min., scăzînd diluția pînă se ajunge la serul (medicamentul) nediluat; se continuă desensibilizarea pe cale subcutanată, cu volume crescînde (0,2—0,5—1 ml); dacă bolnavul suportă volumul de 1—2 ml subcutanat, fără nici o reacție locală sau generală, cantitatea necesară tratamentului poate fi injectată, cu prudență, niciodată i. v.

Prin această metodă, are loc o blocare temporară și treptată a Ac existenți prin Ag introdus; în acest mod, se evită formarea de complexe Ag-Ac în cantitate mare dintr-o dată.

F. TERAPIA STĂRILOR DE SENSIBILIZARE

a) **Terapia „specifică"** se adresează alergenului, agentului etiologic, și urmărește *îndepărtarea* lui din organism; în sensibilizări bacteriene și fungice aceasta se suprapune cu terapia infecției cu A și Ch pentru sterilizare microbiologică a organismului; metoda nu este aplicabilă în viroze, din lipsă de agenți antivirali (și nici în boli de autoagresiune, în care Ag este un constituent al organismului).

b) **Terapia imunodepresivă**, se adresează SCIC, urmărind deprimarea temporară a reactivității imunologice: inhibarea sau suprimarea temporară a producerii de anticorpi umorali și (sau) celulari, după cum boala de sensibilizare este de tip umoral sau/și celular.

Se folosesc diferiți agenți citotoxici, care țintesc celulele imunocompetente, limfocite și plasmocite, la diferite nivele: organe limfoide embrionare și centrale (măduvă osoasă, timus) și organe limfoide periferice (mase ganglionare, splină) sau cu acțiuni globale (tabel 36).

Acești agenți pot fi utilizați în toate stările de sensibilizare, cu alergen cunoscut sau necunoscut. Ele au marele dezavantaj că, reducînd reactivitatea imunologică, reduc rezistența la infecții prin factori specifici (imunitate umorală și celulară) și prin unii factori nespecifici, (inflamația și fagocitoza prin PN) de aceea *terapia imunodepresivă intensivă obligă la luarea de măsuri speciale de protecție antiinfecțicasă* (v. cap. XII. F).

Tabelul 36

Agenți imunodepresivi

ANTIINFLAMATORI	CORTICOSTEROIZI, determină involuția țesutului limfoid, inhibînd formarea Ac umorali și celulari; deprimă răspunsul inflamator în general, inclusiv fagocitoza prin PN. ANTIINFLAMATORI NESTEROIZI BLOCAREA S.R.E. CU PARTICULE NEMETABOLIZATE	
FACTORI FIZICI	*Iradierea subletală cu raze X* inhibă mitoza prin tulburarea directă a funcțiilor ADN: are loc o inhibare parțială a proliferării celulelor limfoplasmocite, deci a răspunsului umoral și celular, și totodată o scădere a numărului de PN; inhibarea inflamației în general.	
FACTORI CHIMICI -INHIBA PROLIFERAREA CIC	*Analogi ai purinelor și pirimidinelor* 6-mercaptopurina, 6-thioguanina,] PUR 5-fluorouracilul] PIR *Antagoniști ai acidului folic* methotrexat etc. *Agenți alkilanți* ciclophosphamida etc.	antimitotice: funcționează ca antimetaboliți ai ADN, ARN și variate coenzime.
	Antibiotice actinomicină, mitomicină, cloramfenicol, interferează ARN și inhibă sinteza de anticorpi.	

ANTIHISTAMINICI; ANTISEROTONINE: inhibă mediatorii chimici.
SER ANTILIMFOCITAR (SAL): inhibă proliferarea limfocitelor-T.
EXTIRPARE CHIRURGICALĂ DE ORGANE LIMFOIDE (splina).

c) **Terapie patogenetică şi simptomatică.** Se fac eforturi pentru găsirea de droguri cu acţiune antagonizantă a mediatorilor chimici enzimatici eliberaţi din celulele lezate de contactul Ac-Ag. Pînă în prezent, de utilizare largă şi eficientă, în anafilaxii şi în fenomene imunopatologice mixte, sînt drogurile antihistaminice. Terapia patogenetică ar trebui adaptată fiecărui tip de mecanism alergic (I, II, IIIa, IIIb, IV).

BIBLIOGRAFIE

1. BALOW J. E., ROSENTHAL A. S.: Glucocorticoid suppression of macrophage migration inhibitory factor. *J. Exp. Med.*, 137, 1 031—1 041, 1973.
2. BRYCESON A. D. M.: Clinical pathology of the Jarisch-Herxheimer Reaction. *J. Infect. Dis.*, *133*, 6, p. 696, 1976.
3. DUCA E., TIMOSCA S.: Etiopatogenia glomerulonefritei post streptococice. *Viaţa medicală*, *XVIII*, 10, 435—442, 1972.
4. DVORAK A. F., MIHM M. C.: Basophilic leukocytes in allergic contact dermatitis. *J. Exp. Med.*, *135*, 2, p. 235, 1972.
5. HALL J.: Extravascular immunity. *Rev. Europ. études clin. et biol.*, *XV*, 145—148, 1970.
6. HAMBURGER R. N.: Peptide inhibition of the Prausnitz Küstner Reaction. *Science*. 189, 389—390, 1975.
7. HERVÉ P., PETERS A.: L'éxploration de l'hypersensibilité retardée. Valeur du test de migration des leucocytes sur agarose. *Nouv. Presse Méd.*, *3*, 23, p. 1 508, 1974.
8. LIPINSKI R.: A hypothesis for the pathogenesis of the generalized Shwartzman Reaction. *J. Infect. Dis.*, *120*, 2, 153—160, 1969.
9. MELLET J. M. et all.: Immunoglobulines et bronhopneumopathies chroniques. *Nouv, Presse Méd.*, 5, p. 258, 1974.
10. MICKEL E. B. et al: Place des déficits en Ig. A (sériques et sécretoires) dans les affections respiratoires chroniques. *Nouv. Presse Méd.*, *4*, 5, p. 327, 1975.
11. MOULIAS R., GOUST J. M.: Les collagénoses. Interprétations pathogénique actuelles. *Nouv. Presse Méd.*, 21, 1 399—1 401, 1972.
12. MOZZICONACCI P.: Indications et limites de l'isolement bactériologique au cours des déficits immunitaires combinés sévères. *Nouv. Presse Méd.*, 3, 22, p. 1 419, 1974.
13. PAUPE J.: Les maladies par complexes immune. *C. M.* 30/11, 1974.
14. PERRAULT M., DRY J.: Les traitements antiaminiques des migraines. *La Rev. du Practicien*, *25*, 5, 377—383, 1975.

15. SANARELLI G.: De la pathogénie du cholera. 9-e mémoire. Le cholera expérimental. *Ann. Inst. Pasteur*, 38, 1924.

16. SCHAEDLER R. W., DUBOS R. J.: The susceptibility of mice to bacterial endotoxins. *J. Exp. Méd.*, *113*, 2, 559—570, 1971.

17. SHWARTZMAN G.: Studies on Bacillus typhosus toxic substances. 1. Phenomenon of local skin reactivity to B typhosus culture filtrate. *J. Exp. Med.*, *48*, 2, 247—268, 1928.

18. SHWARTZMAN G.: Phenomenon of local skin reactivity to bacterial filtrates in its relation to bacterial hypersensitiveness. *J. Exp. Med.*, *57*, 859—869, 1931; p. 291 și 689, 1932.

19. SHUBIN H., WEIL M. H.: Bacterial Shock. JAMA., *335*, 4, 421—424, 1976.

20. TATSUO MATSUMURA: Studies on bacterial cross allergic reaction on the basis of natural sensitization by intestinal flora. *Gunma J. Med. Sci.*, *11*, 4, 319—337, 1962.

21. VICK J. A., MEHLMAN B., HEIFFER M. H.: Early histamine release and death due to endotoxin. *Proc. Roy. Soc. Biol. Med.*, *137*, 3, 902—906, 1971.

22. * * *: *Germ-free animals.* Symposium V. Recent progress in Microbiology, Stockholm, 1958.

23. * * *: Applications cliniques actuelles de immuno-depresseurs. *Allergie et Immunologie*, *VIII*, 2, 13—25, 1976.

Partea a IV-a

BACTERIOLOGIE MEDICALĂ, CLINICĂ, EPIDEMIOLOGICĂ ȘI SANITARĂ

,,Multe din așa-numitele boli ale copilăriei, ca rujeola și tusea convulsivă, sînt bine controlate prin vaccinuri eficiente, iar infecții bacteriene pot fi tratate cu succes prin antibiotice adecvate.

Totuși, în 1974, aproape două milioane de cazuri de boli parazitare, bacteriene, ricketsiene și virale au fost raportate Centrului pentru Controlul Bolilor (Atlanta) și această raportare nu reprezintă decît vîrful aisbergului. *Sondajele au demonstrat că raportarea nu este completă pentru nici una din aceste infecții.*"

(J. Infect. Dis., *134*, 5, 510, 1976)

Tabelul 37 a

Patologia infecţioasă bacteriană, actuală, în ţara noastră

- Infecţii în populaţia generală prin bacterii:
  - înalt patogene
    - „eradicate" (condiţionat)
      - ciuma (deratizare şi evitarea importului);
      - febră recurentă şi tifos exantematic (dezinsecţie);
      - holeră şi dizenterie Shiga (evitarea importului);
    - pe cale de eradicare (condiţionat)
      - difterie (vaccinare 100%);
    - cu morbiditate redusă
      - tetanos (vaccinare 100%);
      - zoonoze: cărbune, tularemie, bruceloză, listerioză... (măsuri speciale de profilaxie în sector zootehnic);
      - febrele tifoide (apă potabilă, mîini curate, vaccinare, supraveghere microbiologică)
      - meningită cerebrospinală epidemică;
      - tuberculoză umană şi bovină.
    - cu morbiditate mare
      - scarlatină, angine şi alte infecţii streptococice;
      - enterobacterioze (salmoneloze, shigelloze, enterite cu E. coli);
      - infecţiile transmise sexual: gonococie, sifilis etc.;
  - condiţionat patogene[1]
    - nfecţiile tractului respirator superior (ITRS) şi inferior (ITRI) şi a mucoaselor anexe;
    - „ „ urinar (ITU);
    - „ „ genital la femeie (ITGF) acute (post-partum, -abortum) şi cronice (anexite);
    - „ plăgilor (IP);
    - bacteriemii, septicemii;
    - infecţii secundare: artrite, pleurite, peritonite, meningite, osteomielite, endocardite, abcese.
  - accidental patogene
    - endocardite bacteriene subacute
      - *Streptococcus viridans*
      - „ *faecalis*
    - meningite
      - *Streptococcus*, serogrup B
      - *Acinetobacter calcoaceticus* etc.

- Infecţii intraspitaliceşti prin bacterii:
  - condiţionat patogene „periculoase"[2]
    - bacteriemii,
    - flebite, septicemii,
    - ITRI (bronhopneumonii, pneumonii),
    - infecţia plăgilor chirurgicale şi a escarelor,
    - peritonite,
    - ITU,
    - enterite
  - accidental patogene
    - endocardite (în secţii de cateterism şi chirurgie cardiovasculară)
      - *S. epidermidis*
      - *P. acnes* şi alţi rezidenţi ai pielii

---

[1] *S. aureus, S. pneumoniae, Kl. pneumoniae, H. influenzae, Ps. aeruginosa, E. coli, S. faecalis, C. albicans*, coci şi bacili anaerobi nesporulaţi.

[2] *S. aureus, Kl. pneumoniae, E. coli* enteropatogen, *Proteus, Ps. aeruginosa*; uneori şi *S. pyogenes* serogrup A (b. înalt patogenă).

Tabelul 37

Procaryotae, categorii taxonomice cuprinzînd bacteriile de interes medical

Clasa	Ordin	Familie	Gen	Partea*
I. BACTERIA	—	Micrococcaceae	Staphylococcus f. a.	Coci gram-pozitiv (14)
			Micrococcus aerobi	
	—	Streptococcaceae	Streptococcus f. a.	
			Gemella f. a.	
			Aerococcus f. a.	
	—	Peptococcaceae	Peptococcus ana.	
			Peptostreptococcus ana.	
			Sarcina ana.	
	—	Neisseriaceae	Neisseria	Coci şi cocobacili gram-negativ (10) aerobi
			Branhamella	
			Moraxella	
			Acinetobacter	
	—	Veillonellaceae	Veillonella	Coci gram-negativ anaerobi (11)
	—	—	Brucella	Cocobacili gram-negativ aerobi (7)
	—	—	Bordetella	
	—	—	Francisella	
	—	—	Haemophilus	Bacili gram-negativi facultativ-anaerobi (8)
	—	—	Pasteurella	
	—	—	Cardiobacterium	
	—	—	Calymmatobacterium	
	—	Enterobacteriaceae	Escherichia	
			(Edwardsiella)	
			Citrobacter	
			Salmonella	
			Shigella	
			Klebsiella	
			Enterobacter	
			(Hafnia)	
			Serratia	
			Proteus	
			Yersinia	
			(Erwinia)	
				Vibrioni gram-negativi

			Yersinia (Erwinia)		
	—	Vibrionaceae	Vibrio		Vibrioni gram-negativi aerobi-facultativ anaerobi (8)
	—	Spirilaceae	Spirillum	aerobi	Bacterii spiralate și curbe gram-negativ (6)
			Campylobacter	ana.	
	—	Pseudomonadaceae :	Pseudomonas		Bacili gram-negativ aerobi (7)
	—	Bacteroidaceae	Bacteroides Fusobacterium (*Leptotrichia*)		Bacterii gram-negativ anaerobe (9)
	=	Bacillaceae	Bacillus	aerobi	Bacili gram-pozitiv formatori de endospori(15)
			Clostridium	ana.	
	—	Lactobacillaceae :	(*Lactobacillus*)		Baciii gram-pozitiv asporogeni, (16)
	—	—	Listeria	aerob	
	—	—	Erisipelothrix	aerob	
	—	—	**Corynebacterium**	aerob	Actinomicete și bacterii înrudite (17)
	—	**Propionibacteriaceae :**	**(*Propionibacterium*)**	ana.	
			Eubacteriu		
	ACTINOMYCETALES	**Actinomycetaceae**	**Actinomyces**	ana.	
			Arachnia **(*Bifidobacterium*)**		
		Mycobacteriaceae	**Mycobaterium**	aerob	
		Nocaridiaceae	**Nocardia**	aerob	
	SPIROCHAETALES	Spirochaetaceae	**Treponema** **Borrelia** **Leptospira**		Spirochete (5)
II. RICKETTSIAS	RICKETTSIALES	**Rickettsiaceae**	**Rickettsia** **Rochalimaea** **Coxiella**		Rickettsii (18)
		Bartonellaceae :	**Bartonella**		
	CHLAMYDIALES	**Chlamydiaceae :**	**Chlamydia**		
III. MOLLICUTES:	MYCOPLASMATALES	Mycoplasmataceae :	Mycoplasma		Mycoplasme (19)

Prelucrat, după Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8th Ed. 1975 (reprint)
— = genuri și familii neclasate încă în categorii taxonomice superioare ; afiliere incertă.

	=	Bacillaceae	Bacillus Clostridium	aerobi ana.	Bacili gram-pozitiv formatori de endospori(15)
	—	Lactobacillaceae :	(*Lactobacillus*)		Baciii gram-pozitiv asporogeni, (16)
	—	—	Listeria	aerob	
	—	—	Erisipelothrix	aerob	
	—	—	Corynebacterium	aerob	Actinomicete şi bacterii înrudite (17)
	—	Propionibacteriaceae :	(*Propionibacterium*) Eubacteriu	ana.	
	ACTINOMYCETALES	Actinomycetaceae	Actinomyces Arachnia (*Bifidobacterium*)	ana.	
		Mycobacteriaceae	Mycobaterium	aerob	
		Nocaridiaceae	Nocardia	aerob	
	SPIROCHAETALES	Spirochaetaceae	Treponema Borrelia Leptospira		Spirochete (5)
II. RICKETTSIAS	RICKETTSIALES	Rickettsiaceae	Rickettsia Rochalimaea Coxiella		Rickettsii (18)
		Bartonellaceae :	Bartonella		
	CHLAMYDIALES	Chlamydiaceae :	Chlamydia		
III. MOLLICUTES:	MYCOPLASMATALES	Mycoplasmataceae :	Mycoplasma		Mycoplasme (19)

Prelucrat, după Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8th Ed. 1975 (reprint)
—= genuri şi familii neclasate încă îu categorii taxonomice superioare; afiliere incertă.

---

* Grupări conforme cu *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th Ed., 1974, reprinted 1975.

Nota: Alături de expresiile fenotipice ale caracterelor genetice (morfologie, colorabilitate, cultivare, metabolism, virulenţă, toxigenitate etc.) ediţia actuală a manualului de determinare bacteriologică a adăugat criterii noi de diferenţiere a speciilor şi încadrare în grupe taxonomice superioare ca (de pildă), sensibilitate naturală la A şi Ch,, structura chimică a peretelui bacterian şi conţinutul în G + C al DNA, criterii care reflectă mai precis filiaţia genetică a speciilor şi gradul de înrudire.

( ) = între paranteze nesubliniat sînt genuri rareori întîlnite pe învelişuri la om şi nedemonstrate ca fiind patogene.

(—) = între paranteze şi subliniat sînt genuri care includ membri foarte importanţi ai florei rezidente.

— = neclasat în grupe taxonomice superioare.

f. a. = facultativ anaerob

ana. = anaerob

XXI. FAMILIA MICROCOCCACEAE

Familia **Micrococcaceae** cuprinde cocii gram-pozitiv așezați în grămezi regulate, sau neregulate; nesporogeni; aerobi, sau facultativ-anaerobi*, catalază pozitivi, care acidifică glucoza fără producere de gaz; diferențiați în trei genuri: (1) *Planococcus*, aerobi, așezați în tetrade, cu habitat în ape de mare, nepatogeni, (2) *Micrococcus*, aerobi, cu habitat în sol și ape, contaminează frecvent mucoasele, nepatogeni (rareori au fost menționați ca accidental patogeni)**, și (3) *Staphylococcus*, facultativ-anaerobi, locuitori ai tegumentelor și mucoaselor la om și animale, cuprind specii importante în patologia medicală (tabel 38).

Tabelul 38

Caractere diferențiale ale genurilor familiei *Micrococcaceae* (prelucrat după „Bergey's Manual", 1975)

Genurile:	*Staphylococcus*	*Micrococcus*	*Planococcus*
Diametrul cocilor	0,5–1,5 µm	0,5–3,5 µm	1–1,2 µm
Așezare:			
grămezi neregulate	+	+	–
tetrade	v*	–	+
Mobilitate	–	–	+
Metabolism	facultativ anaerob	aerob	aerob
Pigment	auriu-alb-galben	galben-roșu	galben
Fermentarea glucozei	+	–	–
Creștere în prezența:			
ClNa	10–15%	5–7,5%	5%
bilei 40%	+	–	–
Temp. optime de creștere	35°–40°C	25°–30°C	20°–37°C
Acizi teichoici	+	–	–
Specia tip	*S. aureus*	*M. luteus* (fost *Sarcina citreus*)	*P. citreus*

* Caracter inconstant la diferitele tulpini.

---

* Stafilococii anaerobi alcătuiesc genul *Peptococcus*, inclus în familia *Peptococcaceae* (v. cap. XXIX).

** Rareori au fost implicați ca accidental patogeni; *criteriile de implicare etiologică* (ca infectant) a unei tulpini, indiferent de identitatea ei taxonomică sînt: (1) reizolare, de minimum două ori, (2) în culturi pure, (3) din sînge și/sau alt produs normal steril, (4) a aceleiași tulpini, (confirmată prin set cît mai mare de teste) și (5) prezența aceluiași aspect morfotinctorial în frotiul din produs patologic (cînd este posibil).

GENUL STAPHYLOCOCCUS

Genul *Staphylococcus* are trei specii (tabel 39):

Staphylococcus aureus, locuitor temporar dar frecvent al vestibulului nazal, de unde însămînțează propriile mucoase, tegumente, colonul, persoane din anturaj, alimente; este *condiționat patogen*, determinînd numeroase infecții minore și grave; din această specie se selectează tulpini periculoase de spital (v. cap. X);

Tabelul 39

Caractere diferențiale ale speciilor *Staphylococcus*
(prelucrat după „Bergey's Manual", 1975)

	S. aureus	*S. epidermidis*	*S. saprophyticus*
Coagulază	+	−	−
Hemolizină-α	+	−	−
Pigment	auriu (alb murdar) *	alb porțelaniu	alb (galben, oranj) *
Acidifierea manitolului:			
în aerobioză	+	±	±
în anaerobioză	+	−	−
Sensibilitate naturală la novobiocină	S	S	R
Proteină A	+	−	−
Polizaharid A (acid ribitol teichoic)	+	−	+
Polizaharid B (acid glicerol teichoic)	−	+	±

+ = cele mai multe tulpini pozitive (≥ 90%); − = cele mai multe tulpini negative (≥ 90%); ± = 11−89% tulpini pozitive; ; = CMI ≤ 0,6 µg/ml; R = CMI > 2,0 µg/ml.
* = Variante posibile.

Staphylococcus epidermidis, rezident normal al vestibulului nazal și tegumentelor, *accidental patogen*, întîlnit în endocardite bacteriene subacute (e. b. s.) consecutive chirurgiei și explorărilor cardiovasculare, în acnee infectată;

Staphylococcus saprophyticus, saprofit în mediul extern, poate contamina mucoase și tegumente, nepatogen (tabel 39).

1. MORFOLOGIE, COLORABILITATE

Speciile *Staphylococcus* sînt identice ca morfologie și colorabilitate. Examinați la microscopul optic, după colorare, stafilococii apar sferici, de 0,8—1 µm Ø, în grămezi neregulate (*staphylos* = strugure) datorate planurilor neregulate în care are loc diviziunea, cu număr variabil de coci (fig. 19); nesporulați, neciliați (imobili la examen în preparat umed între lamă și lamelă), nefimbriați (examen la m. e.).

Unele tulpini de *S. aureus* formează microcapsule ce pot fi vizualizate în culturi de 4 ore în bulion, prin tehnica cu tuș de China (tuș de India)**.

Se colorează bine cu toți coloranții de anilină; sînt gram-pozitiv.

** O picătură de tuș de China este bine amestecată cu o picătură de cultură de patru ore în mediu lichid; cu o altă lamă, se întinde un frotiu subțire (ca frotiul de sînge); se examinează după uscare, cu imersia; capsula apare ca un halou necolorat în jurul cocilor ușori colorați, pe fondul negru al frotiului (metoda Burri).

2. CULTIVARE

Toţi stafilococii cresc uşor pe bulion şi geloză, şi mult mai bine pe medii compuse cu glucoză, ser, sînge; cu *p*H, optim, 7—7,5 (limite între 4,2—9,3); la temperatura optimă de 35°—40°C (cu limite largi 6,5°—46°C); sînt facultativ anaerobi, cresc mai repede şi mai abundent în incubare aerobă (fără acumulare de H_2O_2):

(i) tulpinile proaspăt izolate din infecţii netratate dau *colonii „S" (smooth)*, opace, rotunde, convexe, netede, strălucitoare, mari, de 2 mm Ø, în medie, (variind în raport cu densitatea coloniilor pe suprafaţa mediului de la 0,1 la 1—3 mm Ø) cremoase; în soluţie cloruro-sodică 9‰ dau suspensii omogene; tulbură omogen medii lichide;

(ii) tulpinile de *S. aureus* care posedă microcapsulă dau *colonii „M" (mucoide)*; izolate din infecţii;

(iii) variantele necapsulate şi care au pierdut capacitatea de a sintetiza structuri superficiale de perete dau *colonii „R" (rough)* mate, cu suprafaţă rugoasă, consistenţă cazeoasă, suspendate în soluţie cloruro-sodică izotonică aglutinează spontan; în medii lichide sedimentează, mediul rămînînd limpede; sînt izolate de pe tegumente şi mucoase, din mediu extern, se selectează în culturi vechi de laborator;

(iv) de la bolnavi trataţi cu antibiotice, se izolează uneori (chiar pe medii netamponate osmotic) tulpini care dau *colonii pitice „G"* şi pot trece neobservate la o examinare superficială a plăcilor; corespund variantelor fenotipice cu perete alterat (v. cap. II, A. 4); prin treceri în medii lichide, bogate, revin la aspect normal.

S. aureus dă colonii aurii (pigment carotenoid nedifuzibil); pigmentarea se observă mai bine după incubarea la termostat şi menţinere încă 24 ore la temperatura camerei; pigmentul nu este produs în anaerobioză şi nu se observă în medii lichide. Pigmentogeneza este un caracter variabil atît genetic, cît şi în raport cu sursele de sinteză prezente în mediu; unele tulpini pot pierde capacitatea de a sintetiza pigment, produc pigment puţin sau modificat; coloniile apar alb-murdar, sau palid pigmentate (variaţiile fiind adesea fenotipice, este necesară respectarea metodelor de punere în evidenţă).

S. epidermidis dă colonii alb-porţelanii, numit şi *S. albus* (tabel 39).

3. CARACTERE BIOCHIMICE

S. aureus acidifică fără gaz glucoza, manita, lactoza, maltoza; nu acidifică arabinoza, dextrina, inozita, inulina, rafinoza; nu hidrolizează amidon, esculină; reduce nitraţii. La *S. epidermidis*, aceste caractere sînt variabile şi împart specia în biotipuri.

4. VITALITATE

Stafilococii fac parte din speciile nesporogene cele mai rezistente în mediu extern: supravieţuiesc săptămîni şi luni în produse patologice uscate, (puroi), la temperatura camerei şi adăpost de UV (condiţii ce se întrunesc în încăperi de spital), în praful de pe şi din obiecte (covoare, perdele, perne, pături, saltele); la lumină solară rezistă zile; favorizați de umezeala din camerele grupului sanitar supraviețuiesc și chiar se înmulțesc pe prosoape, perii, bureți, pe ustensile folosite pentru curățenie (mături, perii, cîrpe de spălat pardoseli etc.); *sînt aspecte de care se ține seama în asigurarea igienei personale, igiena locuinței și de spital.*

Majoritatea tulpinilor rezistă 30 min. la 50°C și mor în 3 min. la 60°C căldură umedă (*p*H 7,0); unele tulpini mor abia în 30 min. la 60—62°C; *practic, fierberea îi omoară instantaneu.*

Sînt natural sensibili la fenoli și derivați fenolici (mor în 10 min. în fenol 5%), clor și cloramine, iod și iodofori, detergenți, violet de gențiana (1/100.000—1/1.000.000), mor în 60 min. în alcool 70%. În asigurarea igienei de spitale, *S. aureus* este bacteria gram-pozitiv față de care este testată eficiența dezinfectantelor și antisepticelor folosite, prin determinarea concentrațiilor minime bactericide (CMC), deoarece s-a pus în evidență selectare de tulpini rezistente (testarea se face pe tulpini izolate din secție)*.

5. STRUCTURA ANTIGENICĂ ȘI FACTORI DE PATOGENITATE

Stafilococii sînt foarte heterogeni și variabili antigenic, atît în ce privește structurile celulare de perete, cît și numeroasele enzime extracelulare și toxine; au fost identificate antigene celulare cu specificități de gen, de specie și mari variații de la tulpină la tulpină în sînul speciei.

Antigene și haptene de specificitate

Ag cu specificitate de gen: a fost pusă în evidență o proteină prezentă și la *S. aureus* și la *S. epidermidis*.

Ag cu specificitate de specie:

— stafilococii se caracterizează prin prezență de acizi teichoici, *polizaharidul A, specific speciei S. aureus* (identificat ca acid ribitol teichoic, compus de N-acetil glucozamină și poliribitol fosfat, atașat la stratul bazal al peretelui); *polizaharidul B* (acid glicerol teichoic) caracterizează *S. epidermidis*; sînt haptene care precipită cu ser global antistafilococic; datorită plasării profunde, nu funcționează ca aglutinogene și sînt greu de pus în evidență; nu li se cunoaște rol în patogenitate;

— *proteina A*, bazică, este specifică speciei *S. aureus*, prezentă superficial în perete la majoritatea tulpinilor; funcționează ca precipitinogen și aglutinogen nu are rol în virulență

Diferențierea serologică a speciilor *Staphylococcus* nu este practică și nici necesară în LCM**.

Ag care împart specia S. aureus în tipuri; prin imundifuzie a fost demonstrată existența a numeroase diferențe antigenice de la tulpină la tulpină; pe baza tehnicii de adsorbție a aglutininelor, a fost făcută chiar o împărțire în trei serotipuri principale cu multe subtipuri. Încercările de pînă acum nu au dus la o schemă de serotipare cu aplicabilitate în identificarea de tulpină, variabilitatea în sînul speciei fiind foarte mare. (Identificarea tulpinilor de S. *aureus* în epidemiologia de spital se face prin tipare fagică).

---

* Ca specie gram-negativ, testarea se face pentru *Ps. aeruginosa*.
** LCM = laboratorul clinic de microbiologie.

Factori de patogenitate la S. Aureus

(i) **Factori de virulență.** *Microcapsula* este o structură foarte complexă (70% carbohidrat din care 1/3 glucozamină, cu glicină, lizină, serină, alanină, acid glucozaminuronic, glutamic, aspartic, treonină); funcționează ca important factor antifagocitar. Numai unele tulpini formează o capsulă care poate fi vizualizată, dar toți S. *aureus* sînt mai rezistenți la fagocitoză decît S. *epidermidis*, care nu sintetizează componenți capsulari. Antigenic, are un comportament similar polizaharidului capsular pneumococic: purificat, este slab imunogen pentru iepure dar induce anticorpi protectori, opsonizanți, la șoarece; *ar reprezenta factorul de virulență corpuscular cu posibilități vaccinante*; prezintă însă variații antigenice de la tulpină la tulpină, insuficient studiate.

Exoenzime-agresine. S. *aureus* este caracterizat printr-o mare activitate metabolică; eliberează numeroase enzime zaharolitice, proteolitice, lipolitice, fosfolipaze, fosfataze acide și alcaline, nucleaze, urează. Ajunse în țesuturi, sînt capabile să hidrolizeze structuri celulare *(enzime citolitice)*, necelulare *(factori de difuzare)*, să coaguleze plasma *(factor antifagocitar)*; metabolismul are loc cu acumulare de produse toxice ca acid lactic, acetoin, acizi grași. Enzimele sînt denumite în raport cu alterarea majoră pe care o determină:

Coagulaza: proteină care coagulează plasma (reacționînd cu protrombina, convertește fibrinogenul în fibrină); producerea de coagulază este proprietatea cea mai constantă a speciei; este pusă în evidență prin test de coagulare a plasmei citratate, sau oxalatate, de iepure. Acționează *in vivo* ca *factor antifagocitar*; probabil prin depozitare de fibrină pe suprafața cocilor și trombozarea vaselor mici din vecinătatea focarului infecțios; se cunosc *7 tipuri antigenice*.

Hemolizinele sînt cei mai importanți factori de alterare a celulelor; o tulpină de S. *aureus* poate elibera pînă la 4 hemolizine diferite antigenic și în raport cu eritrocitele lizate *in vitro**:

— hemolizina-α (alfa-toxina sau stafilotoxina) este cea mai agresivă; alterează celulele prin creșterea permeabilității învelișului celular; este *hemolitică* (în doze de 0,001 μg, pentru globule de iepure și oaie), *leucolitică* (pentru leucocite de om și iepure), *dermonecrotică* (în injecție intradermică la iepure), ceea ce s-ar explica prin acțiune citotoxică selectivă directă asupra celulelor mușchilor netezi din pereții vaselor, determinînd constricția, care contribuie la necroza tisulară caracteristică leziunilor stafilococice; este *trombocitotoxică* și *letală* (în injecție intravenoasă la șoarece și în doze mari pentru iepure). Dacă activitățile citolitice sînt inițial enzimatice, mai există încă discuții, dar este practic demonstrat că aceste activități aparțin unor molecule diferite; α-toxina este o proteină antigenică şi vaccinantă, fiind *cea mai importantă în prepararea anatoxinei stafilococice*;

---

* *S. epidermidis* este uneori hemolitic datorită producerii unei hemolizine (diferită antigenic de hemolizinele stafilococului *aureus*, numită *epsilon* (ε).

— hemolizina-β, cea mai frecvent produsă de *S. aureus* (mai ales tulpini de origine animală); este o fosfolipază care „rupe" membranele eritrocitelor de om, oaie, bovine, după incubare în bulion, sau geloză, la 37°C şi peste noapte la frigider; în doze foarte mari este letală pentru iepure;

— hemolizina-γ lizează hematii de om, iepure, oaie, cobai, bovine, şobolan, cal, este slab dermonecrotică pentru iepure şi cobai, letală pentru iepure;

— hemolizina-δ este hemolitică şi leucolitică pentru celule de om, iepure, cobai, cal, şoarece.

Leucocidina, alături de acţiunea leucolitică a hemolizinelor α şi δ, contribuie la formarea puroiului; ar fi eliberată după înglobarea stafilococilor în polimorfonucleare (PN) şi macrofage (M) unde alterează membranele intracelulare eliberînd enzimele lizozomale care distrug structurile intracelulare şi omoară celulele (celule de puroi).

Agresinele sînt în majoritate proteine antigenice şi permit obţinerea de anatoxine. Serul imun preparat pe iepure cu α-hemolizină neutralizează activitatea ei citolitică şi necrotică.

(ii) **Factorii stafilococici de sensibilizare** sînt reprezentaţi probabil de antigenele stafilococice comune speciei şi genului; este demonstrat că infiltraţia de tip monocitar este caracteristică infecţiilor stafilococice cutanate recidivante şi repetate (v. pag. 310).

(iii) **Exotoxina stafilococică** este o enterotoxină produsă de 30—50% din tulpinile coagulazo-pozitive, responsabilă de tulburările gastro-intestinale din toxiinfecţiile alimentare şi, contribuie în determinarea sindromului grav toxicoseptic din enterita sugarului. Au fost diferenţiate 6 tipuri antigenice (A, B, C, D, E, F); mai bine studiată este enterotoxina B, o proteină bazică, cu gr. mol. 24.000, greu hidrolizată de enzimele proteolitice din tractusul digestiv. *Rezistă 30 min. la fierbere şi sînt inactivate în 60 min.* Pot fi obţinute prin cultivare în medii semisolide în atmosferă cu 30% CO_2. Stafilococii eliberează mai frecvent enterotoxinele A şi D; eliberarea enterotoxinelor B şi C, mai rară, are însă loc în cantităţi mari.

Variaţia patogenităţii

S. aureus este o specie virulentă şi toxigenă, patogenitatea ei primară fiind asigurată de o sumă de factori celulari (capsula) şi extracelulari (agresine şi toxine), fiecare supus variaţiei (de exemplu, activităţile caracteristice α-hemolizinei pot fi pierdute în totalitate sau parţial; există tulpini coagulazo-negative etc.). Aceasta explică marea variaţie a potenţialului de patogenitate a tulpinilor de *S. aureus* şi posibilitatea selectării de tulpini cu potenţialul maxim al speciei, aşa cum se întîmplă uneori în spitale, şi care devin „tulpini periculoase" prin dobîndirea, în paralel, a multirezistenţei la A şi Ch (v. cap. X; XI).

Diferenţele de dotare cu factori de patogenitate imprimă şi caracterul infecţiilor, de la minore şi efemere pînă la cele mai grave ca evoluţie şi letalitate. Variaţia antigenică a factorilor de patogenitate asigură posibilitatea repetării infecţiilor şi a sensibilizării organismului la antigenele comune, prezente la toate tulpinile (v. tabel 24).

6. HABITAT, CONTAMINARE, PURTĂTORI

S. epidermidis este cel mai constant rezident normal al vestibulului nazal și al tegumentelor, prezent mai ales în foliculii piloși și glandele sudoripare și în mai mică măsură în glandele sebacee (populate mai ales de *P. acnes*) ; dă unele infecții endogene.

S. aureus este locuitor temporar dar frecvent al vestibulului nazal : prezent la 30—40% din indivizi în masa populației și pînă la 80—90% la personal de spital ; de aici realizează depozite mari în păr, contaminează mucoasele, TRS, tegumentele feței, conjunctiva ; ajuns în colon, contaminează tegumentele perineale, uretra, vaginul ; eliminat în mediul extern, cu excrete și secreții patologice, se înmulțește mai ales în alimente, care devin astfel surse de contaminare. Majoritatea *infecțiilor stafilococice extraspitalicești* sînt ,,endogene'', date de propriii stafilococi (ceea ce poate fi demonstrat prin prezența aceleiași tulpini în nas-faringe și în produsul patologic, puroi, sînge, spută etc.) ; *infecțiile de spital* sînt mai ales ,,exogene'', prin intercontaminare (ceea ce poate fi demonstrat prin identitatea lizotipurilor fagice izolate din produse patologice de la bolnavi și din nazofaringe de la personal de spital). *Purtători periculoși,* în spital, sînt persoane la care *S. epidermidis* a fost înlocuit practic din vestibulul nazal de *S. aureus* (hemolitic, dermonecrotic, coagulazo-pozitiv, capsulat), prezent în densități ce ating 1.000.000 unități formatoare de colonii (UFC) per tampon nazal ; au un foarte mare potențial de contaminare a persoanelor din anturaj, a alimentelor.

Stafilococii habitează și pe învelișuri la animale.

7. BOLI STAFILOCOCICE

Apariția oricărei infecții stafilococice este condiționată ; fapt continuu demonstrat de procentele mari de purtători sănătoși de *S. aureus* la personal de spital, în timp ce aceleași tulpini sînt periculoase pentru organismele vulnerabile ale bolnavilor.

a. *INFECȚII DATE DE S. EPIDERMIDIS*

Este cel mai frecvent agent al endocarditelor bacteriene subacute (e. b. s.) consecutive explorării și chirurgiei cardiovasculare ; infecții apărute odată cu investigarea și chirurgia cardiovasculară. Infecția se explică prin prezența constantă a *S. epidermidis* în porii pielii și rezistența, în procente de pînă la 5%, la cele mai eficiente mijloace de antiseptizare preoperatorie a tegumentelor. Ca urmare, *S. epidermidis* este deseori introdus profund, odată cu bisturiul sau cateterul, însămînțînd incizii și leziuni cardiovasculare ; la adăpost de PN și M se înmulțesc în cicatrice dînd e. b. s., flebite, arterite ; evoluția subacută se explică tocmai prin lipsa de factori de virulență și toxine la această specie. (Și alți rezidenți ai pielii, ca *P. acnes*, pot da e. b. s. în aceleași condiții).

S. epidermidis dă și foliculite superficiale și un procent redus de acnee pustuloasă (cele mai multe fiind date de *P. acnes*, iar cele mai grave de *S. aureus*).

b. *BOLI DATE DE S. AUREUS*

S. aureus dă (i) infecții acute numeroase, (ii) cronicizarea infecțiilor prin fenomene de sensibilizare de tip celular și (iii) toxiinfecții alimentare.

(i) **Infecțiile și condiționarea apariției lor.**

Ca severitate, *S. aureus* dă infecții, de la minore (foliculite superficiale, pustule subepidermice), pînă la foarte grave (septicemii fulgerătoare, meningite, endocardite).

Ca localizare, *S. aureus* determină numeroase infecții primare la poarta de intrare (pe piele și mucoase), localizări unice secundare, septicemii și septicopioemii (localizări miliare).

Infecții la poarta de intrare.

— Cele mai multe sînt **stafilocociile cutanate** : foliculite superficiale (impetigo folicular, pustule subepidermice perifoliculare, infecția foliculilor ciliari = urcior), *foliculite profunde*, ca furunculul, furuncului antracoid (care cuprinde mai mulți foliculi și glande perifoliculare), *sicozis* (foliculita bărbiei și a mustăților), *acneea pustuloasă gravă* (infecția glandelor sebacee), *hidrosadenita* (infecția glandelor sudoripare axilare) ; furunculul constituie o adevărată entitate clinică stafilococică. Apariția acestor infecții implică suprainmulțirea stafilococilor ca urmare a astupării porilor de drenare, favorizată de hipersecreția glandelor sebacee (defect metabolic), de contact repetat cu uleiuri și igienă personală mediocră (cu acumularea stratului cornos descuamat, a secrețiilor glandelor, a altor rezidii organice), umezeală (de aceea, foliculite superficiale și acnee pustuloasă pot fi date și de locuitorii normali ai porilor, *S. epidermidis*, *P. acnes*) ; cele mai grave, furuncule și hidrosadenite, sînt însă cele prin *S. aureus* ; apar prin autoînsămînțarea tegumentelor la marii purtători nazali. Plăgile și arsurile de toate gradele sînt repede colonizate cu *S. aureus*, fie prin autocontaminare (la purtători), fie prin intercontaminări (de spital).

— Stafilococul auriu explică un procent, redus, de **sindroame infecțioase primare avînd ca punct de plecare mucoasele :**

Infecții ale tractusului respirator superior (TRS), rinofaringite, în general minore, mai ales la sugar-copil, care se pot extinde pe cale limfatică (limfangite, amigdalită) și contiguitate (flegmon periamigdalian) ; uneori invadează mucoasele de vecinătate (otite) și conjunctiva (dă cele mai multe blefarite, infecții corneene și celulite periorbitale) ; poate invada tractusul respirator inferior (TRI), dînd pneumonii, bronhopneumonii, foarte grave ; *de exemplu* : 7 decese din 10 pneumonii stafilococice cu bacteriemie (OMS ; Relevé épid. hebd., 27, 1975).

Ajuns în colon, la bolnavii tratați oral cu A. cu spectru larg, *S. aureus* se suprainmulțește în „*vacuum*-ul" ecologic astfel creat ; suprainmulțire care duce la „enterocolita spitalizaților" cu ulcerații și necroză pseudomembranoasă a mucoasei.

Staza urinară favorizează contaminarea și înmulțirea în urina vezicală (bacteriuria), care este la originea infecției tractusului urinar (ITU) ; *S. aureus* explică un procent, sub 10%, de ITU.

S. aureus determină, sau se asociază, într-un procent de infecții uterine acute grave, *postpartum* și *postabortum*, septicemice și în infecții anexiale acute și cronice (salpingite, ovarite, pelviperitonite); la bărbat este o cauză mai rară a prostatitei.

Localizările secundare *unice, cu bacteriemii*, sînt consecutive bacteriemiilor tranzitorii, subclinice, din focare infecțioase primare. *S. aureus* explică procentul cel mai mare de *osteomielite* ale oaselor lungi și vertebrale, unele *artrite*, în procent mai mare la copii, *endocardite*, *meningite*, *abcese* (hepatic, cerebral, perinefretic) etc.

Localizările secundare dau, la rîndul lor, frecvente bacteriemii (de exemplu, 16% în osteomielite, 24% în artrite, procente mari în pneumonii; OMS; Relevé épid. hebd., 27, 1975).

Septicemii. Generalizarea începe cu invadarea țesutului perivascular și a pereților vasculari din zona unei infecții primare, sau secundare; invadarea endoteliului favorizează depunerea de fibrină și formarea trombilor astfel însămînțați=*tromboflebita*, din care se eliberează embolusuri bacteriene uneori abundente = *septicemia*, și mari cantități de exoenzime = *toxemie; S. aureus* dă cele mai multe din *tromboflebitele sinusului cavernos* (stafilococia malignă a feței), consecutive furunculului aripii nazale, faciale, oto-mastoiditelor, celulitei periorbitale; dă *tromboflebite pelvine postabortum*, *postpartum*, și post-intervenții chirurgicale; explică cele mai multe din *romboflebitele periferice prin cateter venos*, infecții actuale de spital; septitemia poate fi fulgerătoare sau cu însămînțare și formare de abcese multiple, cau miliare, *septicopioemia*.

Nou-născutul. Lipsit total de imunitate celulară, organism vulnerabil, nou-născutul face infecții stafilococice grave. Cauza primară a acestora este colonizarea „deviată" a tegumentelor și mucoaselor sale cu *S. aureus*, în loc de *S. epidermidis*; contaminarea are loc la naștere, de la mama purtătoare de *S. aureus*, sau de la personalul din maternitate (contaminare care poate fi foarte periculoasă în spitale în care aceeași echipă lucrează și în secția de ginecologie). Ca urmare, mici piodermite (care la adult sînt localizate de IMC antistafilococică) pot genera la nou-născut septicemii fatale, iar rinofaringite generează bronhopneumonii; prezența în intestin, mai ales la sugarul tratat cu A, poate genera *enterita stafilococică gravă*, toxicoseptică etc.

Spitalul, factor de favorizare a apariției infecțiilor stafilococice:

Primul exemplu care demonstrează că practici medicale necorespunzătoare din punct de vedere al asepsiei pot condiționa apariția infecției stafilococice este clasicul accident de la Bundaberg—Australia (1928); datorită căruia, medicii și cercetătorii au devenit conștienți de faptul că stafilococul poate da și boli foarte grave (12 din 21 copii vaccinați antidifteric, din același flacon contaminat cu *S. aureus*, au murit în primele 48 ore cu fenomene toxice, iar parte din supraviețuitori au făcut abcese la locul injecției).

În spitale se pot întruni condiții favorabile infecțiilor stafilococice: (1) selectare de tulpini „periculoase"; (2) se internează organisme vulnerabile, bolnavi cu rezistență antiinfecțioasă deficitară; (3) fac terapii cu A care reduc flora normală a mucoaselor și a colonului favorizînd înmulțirea tulpinilor multirezistente; (4) densitatea bolnavilor și existența supurațiilor și a purtătorilor de *S. aureus* fac posibile intercontaminări; (5) în spitale se practică tratamentele imunodepresive intensive și (6) numeroase instrumentații medico-chirurgicale favorizează însămînțări profunde ale bacteriilor, pînă la sedii de minoră rezistență antiinfecțioasă. (De exemplu, într-o publicație a OMS din 1975 sînt raportate 140 bacteriemii cu *S. aureus* cu 22 decese; 29 din acestea au apărut după diferite practici medicale: 11 cu punct de plecare puncţia de perfuzie, 4 prin injecţii repetate, 13 postoperator, 1 după proteză valvulară).

Sînt condiţii similare celor experimentale care demonstrează că: „tulpini de *S. aureus* selectate injectate în doze de milioane în pielea voluntarilor sănătoşi determină cel mult infecţii minore, în timp ce un fir de sutură, care lezează ţesuturi, contaminat cu doar 100 de bacterii, din aceeaşi tulpină, iniţiază constant un important proces supurativ".

Caracteristica leziunilor stafilococice localizate este *supurația*, consecință a supraînmulțirii bacteriilor, cu eliberarea de cantități mari de enzime litice, care determină necroza tisulară și citoliză, omorîrea leucocitelor (celule de puroi); coagularea fibrinei în jurul focarului și infiltrația microfagică, de apărare, realizează cel mai adesea autodelimitarea procesului.

(ii) **Cronicizarea prin fenomene de sensibilizare celulară.** În organismul cu bună reactivitate celulară imunologică, infiltratul perilezional monocitar, datorat sensibilizării de tip celular, este cu atît mai important cu cît infecțiile se repetă mai des.

Cel mai caracteristic abces stafilococic este furunculul, a cărui secțiune arată un centru necrotic, cu numeroase PN omorîte, cu stafilococi (unii morți), înconjurați de important infiltrat monocitar.

Experienţe variate justifică această interpretare: (1) inocularea săptămînală de suspensii cu densitate cunoscută, la iepure, permite constatarea că numărul de stafilococi care determină leziune de o anumită amploare inflamatorie devine treptat mai mic (pînă la 100 de ori mai mic) şi invers, (2) aceeaşi doză de stafilococi determină leziuni locale mult mai importante la iepuri sensibilizaţi prin inoculări anterioare, comparativ cu cele care apar la iepuri inoculaţi pentru prima dată.

Au fost descrise și fenomene tip anafilactic.

(iii) **Toxiinfecția alimentară stafilococică.** Toxiinfecții alimentare sînt date de *S. aureus* coagulază-pozitivi, producători de enterotoxine. În condiții optime de temperatură, stafilococii se înmulțesc mai ales în produse lactate, smîntînă, înghețate, creme îndulcite, salate vegetale cu maioneze, preparate din carne cu sosuri etc., eliberînd enterotoxina în mari cantități. Ca urmare, simptomele gastrointestinale apar în 1—6 ore de la consumarea produsului.

Ca frecvență, toxiinfecțiile stafilococice se plasează după cele prin specii *Salmonella*.

Exemplu: 48% din persoanele care au consumat pui rece, fiert cu o zi înainte, dezosat cu mîna şi menţinut la frigider, au făcut toxiinfecţii; acelaşi lizotip de *S. aureus* producător de enterotoxină A a fost izolat de la bolnavi, din nasul persoanelor care au preparat puii, de pe mîinile ajutoarelor şi 2×10^9 stafilococi/g de pui (Br. Med. J., *2*, 376, 1976).

8. REZISTENȚĂ ȘI IMUNITATE ANTISTAFILOCOCICĂ

Ca față de orice bacterie condiționat și accidental patogenă, integritatea anatomică și funcțională și ecologia normală a tegumentelor și mucoaselor asigură apărare eficientă antistafilococică.

În ce privește imunitatea, organismul se imunizează treptat față de multele Ag-e de suprafață și excretate. În organismul adultului sînt prezente imunoglobuline antistafilococice; valoarea protectoare a anticorpilor corespunzători factorilor majori de virulență este bine demonstrată experimental și prin evoluția infecțiilor naturale:

— valoarea protectoare a *anticorpilor opsonizanți anticapsulari* din ser de om a fost demonstrată prin test comparativ cu ser de iepure, fără Ac antistafilococici (*S. aureus* în amestec cu ser de om este mai ușor fagocitat decît în amestec cu ser de iepure; sau, iepuri vaccinați cu vaccin corpuscular inactivat suportă mult mai bine infecții de probă cu tulpina vie, comparativ cu martorii neimunizați);

— valoarea protectoare a *imunoglobulinelor antiagresinice*, din serul de om (anticoagulaze, antifibrinolizine, antihialuronidaze etc.) este demonstrată prin capacitatea de neutralizare a efectelor lor nocive; de asemenea, vaccinarea cu anatoxine (preparate din filtrate de culturi de stafilococ în medii lichide sau din „α-toxină" purificată) protejează iepurele față de doze letale de „α-toxină";

— imunitatea mediată de celule a fost demonstrată prin teste *in vitro* și prin capacitatea organismului adult de a localiza infecțiile la poarta de intrare, prin proces inflamator, monocitar, și de a steriliza focarul infecțios, comparativ cu sugarul la care infecții minore duc ușor la generalizare.

Aceste date, alături de înmulțirea infecțiilor stafilococice datorită noilor condiții, amintite, justifică atenția crescîndă a cercetătorilor asupra stafilococului; studiul antigenelor stafilococice vaccinante este din nou actual.

9. DIAGNOSTIC

a. *DIAGNOSTIC DE INFECȚIE LA BOLNAV**

Precizarea etiologiei stafilococice, atît în infecții supurative cît și în septicemii, bacteriemii, este posibilă numai prin examen microbiologic cu izolarea bacteriei (antibiograma fiind totdeauna necesară); serodiagnosticul este rareori recomandat și numai în infecții în care izolarea bacteriei nu este posibilă (osteomielite închise cu hemoculturi negative).

(i) *Diagnostic microbiologic.* Metodele de izolare și implicare etiologică variază cu tipul de produs patologic.

Puroiul din colecții închise, de infecție primară sau secundară (este un produs monobacterian, bacteria prezentă este infectantul); recoltarea se face prin puncție; prezența constantă a stafilococilor pe piele obligă la foarte atentă antiseptizare a regiunii prin care se face puncția (cu îndepărtarea antisepticului) și lucru riguros aseptic:

frotiul de puroi, colorat Gram, permite cel mai adesea confirmarea infecției cu stafilococ (coci gram-pozitiv în grămezi neregulate, celule de puroi, fig. 78); în infecții

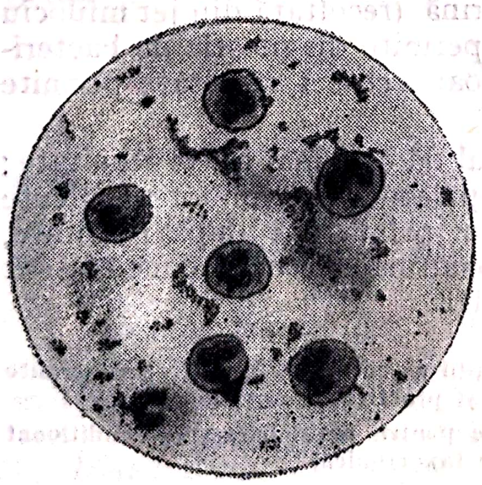


Fig. 78: *Staphylococcus aureus*, în produs patologic.

---

* Diagnosticul la bolnav este sarcina laboratorului clinic de microbiologie (LCM).

deja tratate cu antibiotice și în colecții vechi, aspectul și colorabilitatea cocilor nu mai este caracteristică, mulți stafilococi sînt morți și se decolorează repede în colorația Gram;

însămînțarea pe geloză-sînge de iepure sau oaie confirmă diagnosticul de infecție cu *S. aureus* prin evidențierea de colonii mari, mate, hemolitice, aurii și permite efectuarea antibiogramei.

Produsele cu cel puțin un stafilococ în fiecare cîmp microscopic permit practicarea *antibiogramei pe cultură primară (ACP)*. Importanța ACP este subliniată de date ca cele ale lui *Harmon* și *Baldwin*, care, din 3 tulpini de *S. aureus* producătoare de penicilinază au izolat 38 mutanți sensibili la penicilină; astfel de date arată că antibiograme efectuate pe subculturi pot da uneori rezultate de falsă sensibilitate la A.

Hemoculturile repetate se practică în septicemii, endocardite, meningite și toate infecțiile profunde în care focarul de infecție nu este accesibil recoltării de produs patologic (ca osteomielite închise)* și care dau procente mari de bacteriemii (bronhopneumonii, infecții puerperale, artrite etc.). Criteriile de implicare etiologică a stafilococilor izolați din sînge sînt stricte:

reizolarea aceleiași tulpini din cel puțin două hemoculturi, în culturi pure** (o singură hemocultură poate fi negativă chiar în septicemii stafilococice; în bacteriemii, surprinderea rarelor revărsări sangvine necesită hemoculturi repetate; o singură hemocultură pozitivă poate fi suspicionată de contaminare, din cauza ubicvității stafilococilor pe piele, nas, faringe, păr, aer etc.);

confirmarea identității de tulpină a izolatelor, în acest scop, se face prin evidențierea unui set cît mai mare de caractere (de cultivare, biochimice, spectru de sensibilitate la antibiotice, teste de patogenitate);

ritmul hemoculturilor este dictat de gravitatea clinică și necesitatea terapiei de urgență: 2—3 hemoculturi la intervale de 1/2 oră în septicemii, 5—10 hemoculturi la 6—12 ore în endocardite subacute, osteomielite, alte supurații;

Urocultura cantitativă cu punerea în evidență a cel puțin 5.10^4—10^5 unități formatoare de colonii per mililitru de urină (recoltată din jet mijlociu și însămînțată în prima oră de la recoltare), permite diagnostic de bacteriurie; reproducerea aceluiași rezultat pe urini foarte corect recoltate permite diagnostic de ITU***.

Sputocultura pe produs recoltat transtraheal dă cele mai fidele rezultate; sputocultura pe spută expectorată, cu bună spălare a porțiunilor purulente și cu însămînțarea semicantitativă (fig. 79), în prima oră după recoltare, poate fi de asemenea interpretată****; hemoculturi efectuate concomitent confirmă adesea diagnosticul etiologic al ITRI.

---

* Biopsia osoasă este din ce în ce mai practicată în stadii precoce, presupurative și permite un procent mare (⩾ 50%) de confirmări etiologice și practicarea antibiogramei.

** Aceleași criterii de implicare etiologică sînt valabile pentru toate bacteriile condiționat și accidental patogene (indiferent de identitatea lor taxonomică).

*** *E. Duca, D. Buiuc*: Aportul laboratorului clinic în investigația renourinară. Examenul bacteriologic al urinei. 1976, Bacteriol. Virusol. Parazitol, Epidemiol., XXI, 4, 193—206.

**** *D. Buiuc, E. Duca*: Posibilitățile laboratorului de microbiologie clinică în investigarea. infecțiilor tractusului respirator inferior. 1978, Rev. Med. Chirurg., nr. 2 (353—357) și nr. 3

Puroiul uterin, recoltat din endocol (pe masă ginecologică, după corectă toaletă vaginală) sau intraoperator, însămînțat *imediat*, semicantitativ (fig. 79), poate fi interpretat privind bacteria, sau bacteriile dominante cantitativ; hemocultura este însă esențială în confirmarea etiologiei infecțiilor puerperale (uneori infecții mixte).

Puroi din plăgi, fistule, arsuri; însămînțarea se face semicantitativ (fig. 79), permițînd evidențierea bacteriei dominante care este cel mai adeseori infectantul; se practică în paralel hemoculturi, care, atunci cînd sînt pozitive, precizează etiologia infecției.

Identificarea speciei S. aureus se bazează pe cîteva criterii majore: aspect morfotinctorial al coloniilor, hemoliză, pigment, testul coagulazei, fermentarea anaerobă a manitei (tabel 39) (nu se folosește identificarea antigenică)..

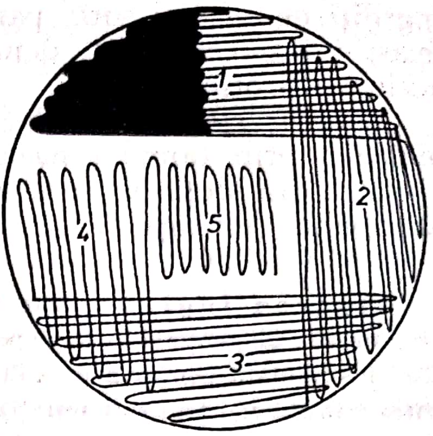


Fig. 79: Tehnică de însămînțare semicantitativă, prin diluare progresivă a produsului patologic pe suprafața mediului în placă Petri:

(în negru este sectorul de descărcare inițială a tamponului sau a ansei; dispersarea se face cu ansa flambată după dispersia în fiecare sector): metoda permite decelarea bacteriei dominantă cantitativ într-un produs patologic supracontaminat (v. fig. 24) și aprecierea cantitativă a speciei infectante indiferent de produs (după *Borry*, citat de *Hoeprich*, 1972).

(ii) *Serodiagnostic (SD)*. Există teste de neutralizare elaborate pentru titrarea anticorpilor față de exoenzimele stafilococice: *antistafilotoxine* (hemolizine), *anticoagulază, antifibrinolizină, antihialuronidază, antileucocidină*. Principiul reacțiilor este neutralizarea activității exoenzimelor titrate în UI (unități internaționale) prin anticorpii din serul bolnavului; deoarece în serul indivizilor sănătoși există practic întotdeauna Ac antistafilococici, interpretarea se face numai pe baza dinamicii ascendente a titrurilor pe recolte repetate de ser; SD este uneori practicat în diagnosticul infecțiilor profunde, închise (osteomielite); fidelitatea lor este discutabilă, avînd în vedere atît diversitatea antigenică a enzimelor, cît și frecvența infecțiilor oculte.

b. *DIAGNOSTIC ÎN SCOP EPIDEMIOLOGIC*

(i) **Diagnostic de infecție de spital.** *Diagnostic de tulpină periculoasă.* În cadrul metodologiei complexe de prevenire a infecțiilor grave de spital și a exploziilor intraspitalicești, *diagnosticul microbiologic precoce de selectare de tulpini periculoase** este foarte important; acest diagnostic se bazează pe diagnosticele laboratorului clinic de microbiologie:

— demonstrarea patogenității (hemoliză, testul coagulazei, testul de dermonecroză și testul de letalitate la șoarece; eventual, și punerea în evidență a microcapsulei, a producerii de hialuronidază și fibrinolizină); și a

— multirezistenței la A și Ch.

Diagnosticul de explozie epidemică de spital se bazează pe identitatea tulpinilor izolate (de la bolnavi din aceeași secție, salon, sau de la bolnavi îngrijiți de aceeași soră, pansați de același medic, sugari din salonul aceleiași infirmiere etc.), demonstrată prin tipare fagică, cu identificarea aceluiași lizotip*.

---

* Simpla înregistrare a procentelor de purtători de *S. aureus* coagulazo-pozitiv nu are valoare epidemiologică, procente similare fiind posibile și în colectivități fără relație cu spitalul.

Identificarea purtătorului (-lor) periculos se bazează pe controlul microbiologic, prin tampon nazal, recoltat de la echipa de medici și personal ajutător din secția în care se succed infecții stafilococice, cu determinarea lizotipului (v. cap. VIII, D. 1)**.

Tiparea fagică diferențiază tulpinile de *S. aureus* coagulazo-pozitive. Fagii stafilococici sînt diferențiați în 5 grupe litice și 5 grupe antigenice (tabel 40). Pe suprafața unei plăci însămînțată pentru a da cultură confluentă cu stafilococul de testat (împărțită în tot atîtea pătrate cîți fagi sînt testați), se depune, în fiecare pătrat, cîte o picătură, din fiecare fag; după incubare (4—6 ore la 37°C și peste noapte la temperatura camerei), se citesc plajele de liză formate; lizotipurile sînt caracterizate de un anumit *pattern* litic (lizate de unul sau mai mulți fagi). Lizotiparea se face (sau se începe) cu fagii pentru tipurile mai frecvent circulante în zona geografică, ca de exemplu 80/81.

Tabelul 40

Grupe fagolitice ale speciei *Staphylococcus aureus*

Grup litic	Fagii de grup								
I	29	52	52A	79	80				
II	3A	3B	3C	55	71				
III	6	7	42E	47	53	54	75	77	83A
IV	42D								
Misc.			81	187					

(ii) **Diagnostic de tulpină enterotoxică.** Identificarea tulpinilor enterotoxice de stafilococ are valoare de diagnostic retrospectiv la bolnav și este de interes epidemiologic (pentru stabilirea responsabilității, a purtătorului). Metoda se bazează pe reproducerea intoxicației prin injectarea intraperitoneală la pisici tinere a filtratului de cultură, (preparat după o metodologie specială): vomă, diaree, adinamie, sînt simptome care apar în decurs de 30 min. și durează cîteva ore.

10. TERAPIE

a) **Sensibilitatea stafilococilor la antibiotice** (A). *Sensibilitatea naturală. S. aureus* și *S. epidermidis* sînt natural sensibili la majoritatea A (tabel 19): peniciline de biosinteză G și V, peniciline de semisinteză rezistente la penicilinază (oxacilină, cloxacilină, dicloxacilină, meticilină, nafcilină); piostacină; macrolide; acid fusidic; la A active față de bacterii gram-pozitiv (vancomicină, lincomicină, bacitracină) și la A cu spectru larg (cefalosporine, clindamicină, rifamicine, novobiocină, streptomicină, neomicină, gentamicină, tetracicline, cloramfenicol).

Rezistența dobîndită. Cu mare frecvență, *S. aureus* dobîndește rezistență la A, inclusiv peniciline rezistente la penicilinază; rezistența la penicilinele G și V are loc prin producere de penicilinază codificată de factor transferabil prin fag temperat (cap. X); este demonstrat că 75% din stafilococi sînt lizogenizați, purtători de 1—5 fagi temperați diferiți, care pot transduce concomitent mai mulți determinanți de rezistență (de ex., $T^r P^r C^r$). Pentru cele mai folosite A., penicilinele de biosinteză, procentele de tulpini rezistente ating 80—100%.

---

* Aceeași metodologie se aplică pentru punerea în evidență și a altor bacterii condiționat patogene periculoase.

** Sînt sarcinile laboratorului de microbiologie epidemiologică, ale Centrului sanitar antiepidemic (CSA).

Condițiile microbiologice ale terapiei antistafilococice în infecții septicemice, bacteriemice, meningite :

— recoltarea produsului pentru diagnostic microbiologic și antibiogramă, anterior administrării de A. (posibil chiar în stafilocociile grave cu terapie de urgență) ;

— utilizarea de concentrații cide de antibiotic ; cea mai simplă cale de verificare a NEC (nivel de eficiență cidă) este demonstrarea că serul bolnavului (sau LCR) este bactericid, față de tulpina infectantă, în diluția 1/8 ;

— dacă NEC seric este atins dar febra continuă, se repetă hemoculturile pentru reizolarea bacteriei și verificarea sensibilității la antibiotice ; (se repereazā concomitent eventuale localizări care necesită terapie chirurgicală).

b) **Desensibilizare.** În infecții cronice și recidivante, rezultate terapeutice au fost obținute de mulți cercetători cu vaccinuri stafilococice corpusculare (polimicrobiene, sau autovaccinuri) și anatoxine folosite pentru desensibilizarea organismului (prin doze mici, nereactogene local, tip *Besredka*).

11. PROFILAXIE

a) **Vaccin.** Nu se practică vaccinare generalizată antistafilococică, dar *S. aureus* face parte din unele vaccinuri polivalente indicate mai ales în prevenirea complicațiilor bacteriene bronhopulmonare consecutive virozelor respiratorii de toamnă și iarnă. În unele maternități s-a încercat vaccinarea gravidelor cu vaccin corpuscular. Anatoxina stafilococică nu a fost folosită în profilaxie.

Teoretic, un vaccin stafilococic imunizant și nesensibilizant ar trebui să includă factorii antifagocitari, corpuscular (microcapsular) și difuzanți (cele 7 tipuri antigenice de coagulază), cele mai importante agresine-enzime (α-toxina și leucocidina), ca și enterotoxinele (A, B, C, D) ; totodată ar trebui să fie lipsit de antigenele corpusculare comune, probabil cele mai sensibilizante. Vaccinuri antistafilococice sînt în studiu.

b) **Profilaxia nespecifică.** Profilaxia antistafilococică se bazează pe metode nespecifice și are ca obiective principale :

(i) prevenirea infecțiilor de spital, mai ales în unitățile care internează mari vulnerabili — maternități, chirurgii, unități de terapie imundepresivă, intensivă, bătrîni — și

(ii) prevenirea toxiinfecțiilor alimentare în populația generală.

Profilaxia infecţiilor stafilococice face parte din problema generală de prevenire a infecţiilor de spital şi urmăreşte:

— depistarea microbiologică a purtătorilor nazali periculoşi[1] de *S. aureus* (hemolitic, coagulază-pozitiv etc.);

— reducerea procentelor de purtători prin riguroasă igienă individuală şi de spital, ca şi măsuri speciale antistafilococice[2], urmată de recolonizare cu tulpină avirulentă[3];

— întreruperea intercontaminării bolnav-bolnav prin *izolare preventivă* a marilor vulnerabili, neinfectaţi, izolarea clasică a bolnavilor cu supuraţii stafilococice;

— întreruperea contaminării purtători-bolnav prin interzicere în serviciu a personalului de spital, purtător, (fig. 32, 35, 36, 37); (chirurgi, personal medical din maternităţi şi pediatrii), pînă la debarasarea de *S. aureus*; prin aplicaţii de ungvent în narine pentru reducerea aerosolilor nazali, purtarea obligatorie a măştii corect confecţionată; spălarea mîinilor[4] după orice manevră contaminantă — în focar septic — şi înainte de atingerea tegumentelor nou-născutului, sugarului, a plăgii curate etc.

— colonizarea dirijată a mucoaselor şi tegumentelor nou-născutului cu stafilococ nevirulent (lipsit de toţi factorii de patogenitate cunoscuţi);

— tratarea tuturor microinfecţiilor superficiale cu antiseptice (local) şi evitarea antibioticelor;

— şi alte măsuri special adaptate.

Profilaxia toxiinfecţiilor stafilococice se integrează în măsurile generale de igienă a alimentului, la care se adaugă măsuri speciale, privind depistarea purtătorilor periculoşi în sectorul de colectare, prelucrare şi distribuire a alimentelor, cu interzicerea în serviciu pînă la debarasare, instructaje periodice privind igiena mîinilor (pentru evitarea contaminării alimentelor cu stafilococii prezenţi în vestibulul nazal, colon). Stafilococii mor imediat la fierbere. Date actuale arată însă că enterotoxina stafilococică, brută este mai rezistentă decît cea purificată; în alimente cu aciditate slabă este inactivată abia în 30—90 minute la 125° (v. cap. V, **B**, 4)

BIBLIOGRAFIE

1. AUBERTIN J., LACUT J.-Y., CERRUTI F.: Péricardites et infections bactériennes. *Bordeaux Méd.*, *2*, 131—136, 1975.
2. AYLIFFE G. A. J. et al.: Antibiotic-resistant *S. aureus* in dermatology and burn wards *J. Clin. Path.*, *30*, 40—44, 1977.
3. BAILEY R. R.: Significance of coagulase-negative *Staphylococcus* in urine. *J. Infect. Dis.*, *127*, 2, 179—182, 1973.

---

[1] Capacitatea de diseminare a purtătorului cu cîteva zeci—sute de colonii per tampon nazal este total diferită de a aceluia cu ⩾ 1.000.000 colonii per tampon.

[2] Aplicaţii în vestibulul nazal, de 3 ori pe zi, de ungvent cu A. active faţă de tulpina purtată (bacitracină, bacitracină cu neomicină; gentamicină), în doze bactericide.

[3] *S. epidermidis*, lipsit de hemolizina, E.

[4] Săpunul cu hexaclorofen este activ antistafilococic.

4. BLUM R. et al.: Recurrent severe staphylococcal infections, eczematoid rash, extreme elevations of IgE, eosinophilia and divergent chemotactic responses in two generations. *J. of Pediatrics*, *90*, 4, 607—9, 1977.
5. BRISOU J., DENIS F.: Les microcoques agents pathogènes occasionnels. *Presse Méd.*, *77*, 41, p. 1 409, 1969.
6. BRORSON J. E. et al.: Properties of some *S. aureus* strains associated with spontaneus L-phase transformation. *Scand. J. Infect. Dis.* *7*, 1, p. 51, 1975.
7. CARBON C.: Septicémies. *Presse Méd.*, 3, 1819—1822, 1974.
8. CASEY J. I. et al.: Impaired response of limphocytes of diabetic subjects to antigen of *S. aureus*. *J. Inf. Dis.*, *136*, 4, 495—501, 1977.
9. DEPLANTE J. P. et al: Vertèbre noire isolée d'origine staphylococcique bactériologiquement confirmée. *Lyon Méd.*, 13, 65, 1974.
10. DUPERRAT B., CHIVOT H.: Un vaccin-anatoxine staphylococcique contre l'acné. *Presse Méd.*, *76*, 24, 1191—1192, 1968.
11. FOUACE J.: Transfer of resistance plasmids in *S. aureus*. *Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur)* *125A*, 517—520, 1974.
12. GUPTA K. G. et al.: Quantitative correlation between pyrrolidonyl peptidase activity and coagulase of Staphylococci. *Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur)*, *125A*, 413—417, 1974.
13. HARMON S. A., BALDWIN J. N.: Nature of the determinant controlling penicillinase production in *S. aureus*. *J. Bacteriol.*, *87*, 3, 593—597, 1969.
14. JARWIS A. W. et al.: Production of staphylococcal enterotoxins A, B and C under conditions of controlled pH and aeration. *Infect. Immun.*, *7*, 6, 847—854, 1973.
15. KLOSS W. E., ZIMMERMAN R. J., SMITH R. F.: Preliminary studies on the characterization and distribution of *Staphylococcus* and *Micrococcus* species on animal skin. *Appl. Microbiol.*, *31*, 1, p. 53, 1976.
16. KLOOS W. E., WHITE M.: Distribution and persistence of *Staphylococcus* and *Micrococcus* species and other aerobic bacteria on human skin. *Appl. Microbiol.*, *30*, 3, 381, 1976.
17. LAVOIPIERRE G. J. et al.: A vaccine for neonatal Staphylococcal disease. *Ann. J. Dis. Child.*, *12*, 5, 377, 1971.
18. MARSIK F. J., PARISI J. T.: Significance of *S. epidermidis* in the clinical laboratory *Appl. Microbiol.*, *25*, 11—14, 1973.
19. MORSE S. A., BALDWIN J. N.: Factors affecting the regulation of staphylococcal enterotoxin B. *Infect. Immun.*, *7*, 6, 839—846, 1973.
20. PARISI J. T., BALDWIN J. N., SOTTILE M.: Pour-plate method for the detection of coagulase production by *S. aureus*. *Appl. Microbiol.*, *25*, 4, 558—561, 1973.
21. PEARL M. A.: Staphylococcus phage types in a nursery epidemic. *JAMA*, 226, 5, p. 569, 1973.
22. PESNEL G. et al.: Staphylococcie pléuro-pulmonaire à staphylocoque doré résistant hétérogene. Rôle du laboratoire de bactériologie médicale. *Nouv. Presse Méd.*, *4*, 32, p. 234, 1975.
23. POPOVICI M. I., GRECEANU V. şi colab.: Staphylocoques blancs, coagulase négatifs, isolés dans des processus infectieux chez l'homme. *Arch. Roum. Path. Exp. Microbiol.*, 31, 61—67, 1973.

24. QUENEAU P. et al.: Valeur du dosage des anti-alphastaphylolysines sériques pour le diagnostic des staphylococcies ostéoarticulaires. *Lyon Méd.*, 235, 3, 203—205, 1976.

26. SCHUR P. H. et al.: Selective gamma—G globuline deficiencies in patients with recurrent pyogenic infections. *N, Engl. J. Med.*, *283*, 12, 631—634, 1970.

27. SPERBER W. H., TATINI S. R.: Interpretation of the tube coagulase test for identification of *Staphylococcus aureus*. *Appl. Microbiol.*, *29*, 4, 502, 1975.

28. SUMMERS M. M., LYNCH P. E., BLACK T.: Hair as a reservoir of staphylococci *J. Clin. Path.*, *18*, 13, 13—19, 1965.

29. WILSON S. G., FU C., NEU C. H.: Selection and characterization of strains of *S. aureus* displaying unusual resistance to aminoglycosides. *Antimicrob. Ag. Chemother.*, 10, 3, 526—543, 1976.

30. * * *: Bactériemie à Staphylococcus. *OMS Relevé épidém. hebd.*, nr. 27, 1975.

31. * * *: Intoxications alimentaires et température des réfrigérateurs. OMS *Relevé épidém. hebd.*, 37, (p. 288) 1976.

32. * * *: Entérotoxine staphylococcique. *Chronique OMS*, *23*, 1, 39, 1969.

XXII. FAMILIA STREPTOCOCCACEAE

Familia **Streptococcaceae** cuprinde cocii gram-pozitiv aşezaţi în lanţuri, facultativ anaerobi*, cu metabolism fermentativ, lactic, diferenţiaţi în 5 genuri (tabel 41) : (1) *Leuconostoc* şi (2) *Pediococcus* alcătuite din specii nepatogene fermentative ale produselor vegetale, (3) *Gemella* cu specia *G. haemolysans* (fostă *Neisseria haemolysans*), comensal al mucoaselor la mamifere, găsită uneori în secreţii bronhice la om, probabil ca bacterie de asociaţie în infecţii mixte, (4) *Aerococcus*, cu specia *A. viridans*, accidental patogen, izolat uneori din infecţii ale tractului urinar (ITU) şi endocardite bacteriene subacute (e. b. s.)** şi (5) genul *Streptococcus* care încadrează specii de toate gradele de patogenitate, inclusiv specia înalt patogenă, *S. pyogenes* demonstrată încă de *Pasteur* (1879) ca agent al febrei puerperale grave cu contaminare de spital.

Tabelul 41

Caractere diferenţiale ale genurilor familiei *Streptococcaceae* (Alcătuită după Bergey's Manual, 1974)

	Streptococcus	Aerococcus	Gemella	Leoconostoc	Pediococcus
Habitat	mucoase, lapte	vegetale, aer, mucoase	mucoase TRS	vegetale, lapte	vegetale, bere
Patogenitate	specii patogene şi nepatogene	accidentală	accidentală	—	—
Specia tip	*S. pyogenes*	*A. viridans*	*G. haemolysans*	*L. mesentericus*	*P. cerevisiae*
Aşezare	lanţuri, perechi	perechi-tetrade	singuri-perechi	lanţuri	perechi-tetrade
Diametrul cocilor (μ)	0,6—1	1—2	0,5—0,6	0,5—0,7/ 1,0—1,2	0,6—1
Coloraţia Gram	+	+	V	+	+
Hemoliză	β, α, γ	α	β	—	—
Acid lactic din glucoză	+	+	—	+	+
Catalază	—	V	—	—	V
Creştere în medii cu :					
40% bilă	—	+	—	—	—
10% ClNa	—	+	—	—	—

---

* Streptococii anaerobi alcătuiesc genul *Peptostreptococcus* familia *Peptococcaceae* (v. cap. XXIX).

** Vezi subsol paginile 301 şi 312

GENUL STREPTOCOCCUS

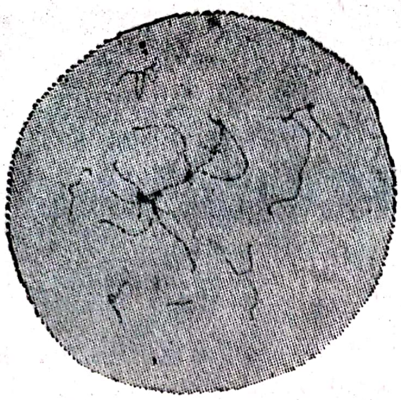


Fig. 80: Streptococi.

Genul *Streptococcus* cuprinde cocii sferici, sau ovoizi, așezați în lanțuri (*streptos*=lanț) lungi, sau perechi* (fig. 80), gram-pozitiv, facultativ anaerobi, neproducători de catalază, produc acid lactic din glucoză, nu fermentează manita, nu reduc nitrații, cresc sărac pe medii solide, dînd colonii mici; genul este foarte heterogen metabolic, antigenic, ca habitat natural și dotare cu factor de patogenitate; au fost diferențiate 22 de specii (inclusiv pneumococul, fost *Diplococcus pneumoniae*) și 8 grupe serologice neomologate ca specii.

CLASIFICĂRI

Clasificarea streptococilor pe baza tipului de hemoliză

Schottmüller (1903) a diferențiat streptococii pe baza modificărilor produse prin cultivare în bulion cu sînge de iepure, sau cal, în *hemolitici*, *viridans* și *nehemolitici*. *Smith* și *Brown* (1915) au introdus noi denumiri:

β-*hemolitici* pentru hemolitici, streptococi care dau pe geloză-sînge colonii ce se înconjură de o zonă de hemoliză clară, decolorată;

α-*hemolitici* pentru *viridans*, streptococii care dau colonii cu zonă îngustă de hemoliză incompletă, cu înverzirea mediului după incubarea peste noapte la termostat; după încă 24 ore la frigider, zona verde se înconjură de un inel îngust de hemoliză clară;

γ-*hemolitici* pentru nehemolitici, streptococi care nu modifică geloza-sînge.

Clasificarea antigenică

Această clasificare, începută de *R. Lancefield* în 1928, continuă și azi.

(i) **Grupe antigenice Lancefield****. Clasificarea se bazează pe structura diferită a unui carbohidrat de perete, numit „C”, un hapten (extras prin tratarea sedimentului de cultură cu acid clorhidric la 100°C), cu cel puțin 18 structuri diferite, care precipită în prezența serului specific preparat prin hiperimunizarea iepurilor. Cu excepția cîtorva specii *viridans*, a pneumococului și unii nehemolitici, streptococii pot fi încadrați pe baza carbohidratului „C” în 18 grupe desemnate cu litere mari, de la A la H și de la K la T: (grupele A, B, F, H, S sînt echivalente cu cîte o specie; pe baza altor caractere, grupa C este împărțită în 4 specii, grupa D în 5 specii, grupa N în 2 specii; restul grupelor Lancefield nu au fost omologate ca specii; tabel 42).

---

* Pentru a evita greșeli de interpretare: așezarea streptococilor este cel mai bine pusă în evidență în frotiu de cultură de 18—20 ore în bulion; prezența de lanțuri formate din mai mult de 4 coci este specifică numai streptococilor.

** În 1934, *R. Lancefield* cita lucrări mai vechi ale cercetătoarei românce *Coralia Agapi (Baldovin)* din Iași, privind tipurile de streptococi; ulterior șef de secție la Institutul Cantacuzino București.

Această clasificare a precizat că ⩾ 90% din infecțiile prin streptococi β-hemolitici, la om, sînt date de streptococi din grupa A, echivalentă cu specia *S. pyogenes*, restul fiind date de streptococi din grupele B (specia *S. agalactiae*), C (speciile *S. equisimilis*, uman, și *S. zooepidemicus*, animal), G și mai rar din alte grupe, F.

(ii) **Tipuri antigenice.** Majoritatea grupelor Lancefield conțin mai multe tipuri antigenice diferențiate prin structuri de perete plasate mai superficial decît carbohidratul „C”, astfel:

S. pyogenes grup Lancefield A este împărțit în 57 de tipuri, pe baza structurii variate a proteinei M, și în 27 de tipuri pe baza proteinei T (notate cu cifre arabe); majoritatea tulpinilor de *S. pyogenes* posedă un Ag M și un Ag T:

proteina M (cu 57 structuri cunoscute), rezistă 30 min. la fierbere în pH 2, este distrusă de tripsină, solubilă în alcool; tiparea streptococilor *pyogenes* pe baza proteinei M (extrasă prin diferite metode) se face în test de precipitare în prezența serurilor specifice de tip, preparate pe iepure; proteina M este cel mai important Ag celular de virulență;

proteina T (cu 27 de structuri cunoscute), este rezistentă la pepsină și tripsină, ușor distrusă la pH acid și căldură (nu este prezentă în extractele de proteină M); este obținută prin digestie proteolitică (care distruge proteina M); diferențierea tipurilor T se face prin aglutinare cu culturi tratate cu tripsină; este plasată mai profund decît proteina M; nu i se cunoaște vreun rol în virulență.

Streptococii grup C au patru specii diferențiate biochimic și prin habitat, fiecare cu 1 pînă la 8 tipuri diferite, pe baza proteinei diferite de perete (similară proteinei „M”); (tabel 42.)

Celelalte grupe serologice conțin carbohidrați de perete cu specificități de tip; (numărul de tipuri este inclus în tabelul 42).

(iii) **Specii cu capsulă de acid hialuronic.** Speciile *S. pyogenes* (grup A) și speciile *S. zooepidemicus* și *S. equi* (grup C) de origine animală, posedă capsulă de acid hialuronic, nediferențiat chimic la cele două grupe și neantigenic (probabil datorită structurii identice cu acidul hialuronic din substanța de bază a țesutului conjunctiv); este un factor antifagocitar.

(iv) **Alte antigene corpusculare.**

Proteina „R”, de perete, cu specificitate de grup, a fost pusă în evidență la streptococi grup A, B, C, G; la S. *pyogenes*, proteina „R” poate avea două structuri diferite; poate fi pusă în evidență prin aglutinare; este mai profund plasată decît proteina M; nu prezintă relații cu patogenitatea.

Antigenul lipoproteic legat de m.c. p. ar prezenta unele diferențe antigenice de la grup la grup antigenic; Ag lipoproteic de serogrup A ar fi implicat ca factor sensibilizant în cardita reumatismală.

Nucleoproteina „P” este un Ag și mai profund, specific de gen (similar la toți streptococii inclusiv pneumococi); (fig. 81).

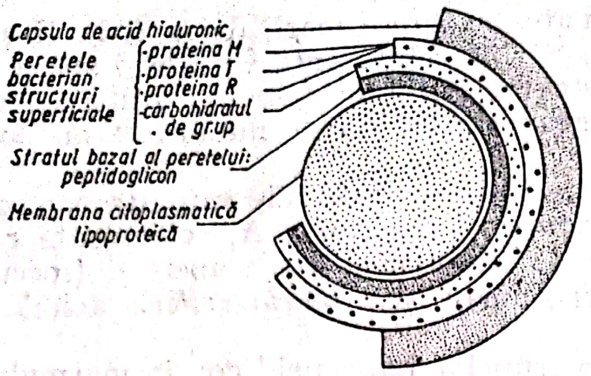

Capsula de acid hialuronic
Peretele bacterian structuri superficiale
-proteina H
-proteina T
-proteina R
-carbohidratul de grup
Stratul bazal al peretelui: peptidoglican
Membrana citoplasmatică lipoproteică

Fig. 81: Schematizarea structurilor de înveliş la *Streptococcus pyogenes*.

Clasificarea Scherman

Această clasificare, cea mai cuprinzătoare, continuu perfectată, cuprinde toţi streptococii şi se bazează pe toate caracterele majore, inclusiv habitat (tabel 42):

(i) *streptococii lactici*, nepatogeni, fac parte din flora de fermentare a laptelui, sînt nehemolitici, sau slab *alfa*-hemolitici; contaminează frecvent mucoasele şi tegumentele; corespund grupelor serologice N, P, T şi unor specii negrupabile;

(ii) *streptococii fecali*, grup D, cu 4 specii, şi variante, saprofiţi ai intestinului la om şi la animale; cuprind specii condiţionat, sau accidental patogene pentru om, ca *S. faecalis* (nehemolitic, cu varianta hemolitică *S. zymogenes*), prezent în intestinul omului, poate determina ITU, e. b. s. şi toxiinfecţii alimentare; *S. bovis* (*alfa*-hemolitic), de origine animală, identificat rareori în e. b. s. la om (p. 337);

(iii) *streptococii viridans*, cu 4 specii, sînt cei mai constanţi rezidenţi ai mucoasei bucofaringiene, ajung frecvent în torentul circulator (datorită microtraumatismelor şi inflamaţiilor din cavitatea bucală), putînd coloniza leziuni existente ale endocardului, dînd majoritatea e. b. s.; unele tulpini şi unele specii *viridans* sînt încadrate în clasificarea Lancefield; se întîlnesc variante beta- şi alfa-hemolitice (p. 334);

(iv) *streptococii piogeni* includ specii patogene pentru om şi/sau animale; comensali temporari, mai ales pe mucoasa tractusului respirator superior (TRS), *beta*-hemolitici, cu variante α şi γ; cei mai importanţi pentru patologia umană fiind:

— *S. pyogenes*, grup Lancefield A, specie înalt patogenă, determină (i) scarlatina, (ii) angine, piodermite, febre puerperale, infecţii cu alte localizări şi (iii) grave complicaţii alergice postinfecţioase (p. 324);

— *S. pneumoniae*, *alfa*-hemolitic, comensal temporar al mucoasei TRS la om şi animale, condiţionat patogen, determină cel mai mare procent din pneumonii, ca şi bacteriemii, meningite şi alte localizări; neîncadrat în clasificarea Lancefield (p. 339);

— *S. equisimilis*, grup C de origine umană, *beta*-hemolitic, comensal temporar al mucoasei TRS, dă uneori infecţii similare celor prin *S. pyogenes*;

— *S. serogrup G*, de origine umană, *beta*-hemolitici, dau rare infecţii ale TRS; au fost implicaţi în GNA;

— *S. agalactiae* grup B, de origine bovină, uneori hemolitic, prezent deseori pe mucoasa vaginală la femeie, poate contamina nou-născutul, dînd un procent mare din meningitele acestuia;

— *S. zooepidemicus*, grup C. de origine animală, ajunge pe mucoasa TRS la om, cu lapte nepasteurizat, şi a fost descris în faringite cu adenite laterocervicale; a fost implicat şi în GNA; este dotat cu factori de patogenitate corpusculari (capsulă, proteină similară proteinei M), enzimatici (streptolizină tip S, streptokinază), iar unele tulpini eliberează şi eritrotoxină.

Tabelul 42

Genul *Streptococcus*, caractere diferențiale a subgrupelor și speciilor

Streptococi:	Specii și grupe antigenice	Hemoliză pe geloză-sînge	Grup antigenic *Lancefield* (carbohidrat „C")	Nr. tipuri antigenice	Natura antigenului sau haptenului de tip*	Creștere la:			Creștere în mediu cu			Toleranță 30 min la 60°C	Producerea de fibrinolizină	Hidrolizează					Fermentează				Habitat
						10°C	45°C	pH 9,6	Lapte cu 0,1% albastru de metilen	ClNa 6,5%	Bilă 40%			Gelatina	Amidonul	Hipuratul	Esculina	Arginina	Trehaloză	Sorbitol	Inulină	Glicerol	
Piogeni	S. pyogenes	β	A	57	prot.	−	−	−	−	−	−	−	+	d	−	−	+	+			−		om
	S. equisimilis	β	C	8	prot.	−	−	−	−	−	−	−	+	−	d	−	d	+	+	−	−	+	om
	S. zooepidemicus	β	C	8	prot.	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	+	+	−	+	−	−	animale diferite
	S. equi	β	C	1	prot.	−	−	−	−	−	−	−	−	−		−	−	+	−	−	−	−	cabaline
	S. dysgalactiae	α	C		prot.	−	−	−	−	−	−	−	d	−		d	d	+	+		−	−	bovine
	S. agalactiae	β(γ)	B	4	ch.	−	−	−	−	−	+	−	−	−	−	+	−	+	+	−	−	d	bovine, om
	S. sp. grup E	β	E	5	,,	−	−	−	−	−	−	−	−	d	−	−	+	+	d	d	−	d	porcine, om,
	S. sp. ,, G	β	G	3		−	−	−	−	−	−	−	d	−	+	−	+	+					om
	S. sp. ,, L	β	L						−	−	−					−			+			−	cîine
	S. sp. ,, M	β,(α)	M(K)	3		−	−	−	−	−	−					−	−	d					om, animale
	S. sp. ,, O	α, β	O							−	−	−	−			−			v	−			om
	S. sp. ,, R	β,(γ)	R				−	−	−	−	+	−				−	+	+	+	−	+	−	porc, om
	S. suis ,, S		S(D)	1	ch						d	−			+		+		+	+	+	+	porc
	S. pneumoniae	α	−	80	,,	−	−	−		−	−	−	−	−						−	+	d	om, animale
Viridans	S. mitis	α	(Q,D,N)			−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	d	d	−	−	±	om
	S. sanguis	α(β)	H	5	,,	−	d		−	−	+	d	−	−	−	−	+	+	+	−	+	−	,,
	S. salivarius	α(γ)	(K)	2	,,	−	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	+	−	±	−	+	±	,,
	S. anginosus (MG)	α(γ)	F(G_1)	5	,,	−	d	−	−	−	d	−	−	−	−	−	+	+	±	−	−	−	,,
Fecali	S. faecalis **)	γ	D	11	,,	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	+	+	+	+	+	−	+	om
	S. faecium	α	D	19	,,	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−		+	+	d	d	−		,,
	S. bovis	α	D	multe	,,	−	+	−	−	−	+	+	−	−	+	d	+	−	+	d	d	−	bovine
	S. equinus	α(γ)	D			−	+	−	−	−	+	−	−	−	+	−	+	−	−	d		−	cal
	S. avium	α	D, Q			+	+	+	−	+				−	−	−	+	−	+	+	+	+	păsări, om, porc
Lactici	S. lactis	(α)γ	N			+	−	−	+	−	+	d	−	−	−	d	d	+	+	−	−	−	lactate
	S. cremoris	(α)γ	N			+	−	−	d	−	+	d	−	−	−	−	d	−	−	−	−	−	,,
	S. thermophilus	(α)	−			−	+	−	−	−	−	+	−	−	+	−	−	−	−	−	−	−	,,
	S. acidominimus	γ	−			−	−	−	−	−	−	−	−	−		(+)	−	−	+		−	−	,, , bovine
	S. uberis	α	−			+	+	−	−	−	−	+		−		d(+)	+	+	+	+	+	+	,,
	S. sp. grup P		P																				,,
	S. sp. ,, T		T																				,,

* prot. = proteină; ch = carbohidrat;

** *S. faecalis* subspecia *zymogenes* este β-hemolitic.

β = hemoliză clară; α = hemoliză verde; γ = nehemolitic; în paranteze sînt incluse variațiile posibile.

d = 11–89% tulpini pozitive; ( ) = reacție întîrziată.

A. STREPTOCOCCUS PYOGENES, SEROGRUP A

Este cel mai important streptococ în patologia umană actuală.

Morfologie, colorabilitate (fig. 80): coci sferici, de 0,6—1,0 µm Ø, așezați în lanțuri lungi (în bulion), în lanțuri scurte și perechi (în produse patologice și culturi pe medii solide); gram-pozitiv; prin metoda cu tuș de China, în frotiuri din culturi de 2—4 ore, se poate pune în evidență capsulă (v. subsol pag. 302).

Vitalitate: mor repede în condiții de mediu extern, la uscăciune, UV; mor în 2—3 luni la 4°C; mor în cîteva minute în prezența antisepticelor la concentrații uzuale.

Cultivare: necesită pentru dezvoltare numeroși factori de creștere, aminoacizi, purine, pirimidine, vitamine și glucoză, favorabile sintezei de proteină M; de aceea, cresc bine pe medii cu ser, sînge, glucoză, la temp. optimă de 37°C, în incubare aerobă și anaerobă; mediul de elecție pentru izolare este geloza cu sînge de iepure, sau cal;

pe medii lichide nu formează peliculă, tulbură inițial bulionul, apoi cultura sedimentează formînd grunji și mediul rămîne limpede;

pe geloză-sînge (în plăci Petri) formează colonii mici, 0,1—1,2 mm Ø, transparente, înconjurate de zonă de hemoliză clară, tip *beta*.

Tabelul 43

Factorii de patogenitate cu care este dotată specia *S. pyogenes* determinanți de imunoglobuline cu valoare protectoare

					Ig. cu valoare protectoare
Exotoxine:	eritrotoxinele A, B, C;				+
Factori de virulență	*corpusculari* (antifagocitari)	proteina M, de perete			+
		capsula de acid hialuronic			—
	extracelulari (agresine)	citolitice	hemolizina O	hemolitică leucocidinică (intracelular) cardiotoxică (experimental)	+
			hemolizina S	leucocidinică	
		proteolitice: proteinaze lipoproteolitice: esteraze			+
		de invazie	hialuronidaza		+
			streptodornaza	dezoxiribonuclează A, B, C, D ribonuclează	+
			streptokinaze (fibrinolizine) a și B		+
Factori de sensibilizare	factor nefritogen (?)				Ac sensibilizanți
	factor reumatogen (membrană citoplasmatică (?)				Ac sensibilizanți

Examinate cu lupa, pot fi diferenţiate : (i) *colonii M (mucoid)*, cele mai mari, strălucitoare rotunde, sau cu contur neregulat, ca picături de apă, date de tulpinile capsulate; (închiderea ermetică a plăcilor pentru prevenirea uscării gelului de acid hialuronic, permite evidenţierea coloniilor mucoide) ; prin uscarea gelului capsular, coloniile M devin mate *(matt)*, turtite, zbîrcite; (ii) *colonii S (glossy* = netede), mai mici, conice, ca pălăriuţe de chinez, sînt date de tulpinile necapsulate, dar care au proteină M; (iii) *colonii R (rough)* sînt date de tulpini necapsulate şi lipsite de proteină M.

Antigenele de specificitate (au fost descrise în cadrul clasificării Lancefield) ; sînt Ag corpusculare, carbohidratul de grup (A) şi proteinele de tip M şi T.

Factorii de patogenitate sînt incluşi în tabelul 43 ; *S. pyogenes* este o bacterie (1) *toxigenă,* (2) *virulentă* şi (3) *sensibilizantă.*

1. TOXINA ŞI TOXIINFECŢIA SCARLATINOASĂ SAU SCARLATINA

Eritrotoxina streptococică (toxina Dick sau toxina scarlatinoasă), este o veritabilă exotoxină, proteică, responsabilă de erupţia roşie caracteristică scarlatinei (*erytros* = roşu) ; foarte antigenică, determină apariţie de antitoxină şi imunizare. Este elaborată de toate cele 57 tipuri din grupa A (şi de unele tulpini de grup C şi G). Au fost puse în evidenţă 3 eritrotoxine antigenic diferite (numite A, B, C) ; cel mai frecvent este elaborată eritrotoxina A. Producţia de eritrotoxină este un caracter mediat de un fag temperat (aspect care confirmă cercetări mai vechi ale lui *Ion Cantacuzino*).

Scarlatina este o toxiinfecţie şi reprezintă boala streptococică pe care o face copilul după prima contaminare; începe cu o faringită roşie ce se însoţeşte de prinderea ganglionilor latero-cervicali, febră şi eritemul determinat de eritrotoxină ; copilul se imunizează *antitoxic* şi faţă de tipul antigenic M cu care a făcut infecţia.

Imunitatea antiscarlatinoasă se referă numai la imunitatea antitoxică şi durează toată viaţa (deoarece majoritatea tulpinelor secretă eritrotoxina A). Copilul rămîne însă susceptibil la infecţii cu oricare din cele peste 50 tipuri antigenice M, infecţii ce se repetă cel mai adesea ca angine, mai rar piodermite, sau alte infecţii.

2. FACTORI DE VIRULENŢĂ ŞI INFECŢII STREPTOCOCICE

Virulenţa S. pyogenes este dată de *factori de structură*, proteina M şi capsula de acid hialuronic, şi de numeroase *agresine eliberate extracelular*; (prin electroforeză, au fost puse în evidenţă pînă la 20 Ig care reacţionează cu antigene extracelulare eliberate de o singură tulpină de streptococ grup A) ; tabel 44.

Tabelul 44

Boli streptococice

- **S. pyogenes** (grup A)
  - 1. *toxiinfecția scarlatinoasă* sau scarlatina: infecția streptococică primară
  - 2. *infecții*
    - faringite *, uneori complicații supurative:
      - adenite cervicale,
      - otite, mastoidite,
      - sinuzite, meningite,
      - abcese peritonsilare,
      - bronhopneumonii;
    - cutanate
      - piodermite (impetigo)
      - erizipel
      - infecția plăgilor
      - *angulus infectiosus oris* (zăbala)
      - cheilita
      - intertrigo etc.
      - complicații posibile
        - celulite
        - flegmoane
        - miozite
        - limfangite
        - flebite
    - uneori bacteriemii
    - endometrite *postpartum*, *postabortum* — septicemii (febra puerperală)
  - 3. *complicații nesupurative poststreptococice* (alergice)
    - GNA (glomerulonefrită acută)
    - FR (febra reumatismală)
      - RAA (reumatism articular acut)
      - CR (cardita reumatismală)
      - eritem nodos
      - coree

S. viridans: bacteriemii → e.b.s. (endocardită bacteriană subacută)
S. faecalis (grup D): ITU (infecții ale tractusului urinar) → bacteriemii → e.b.s.

S. pneumoniae: pneumonia francă lobară, cu ≥ 30% bacteriemii; uneori localizări secundare, mai ales meningite, otite, mastoidite, sinuzite;
S. grup B: meningite la nou-născut.

---

* Streptococi beta-hemolitici grup C și G, dau, uneori, infecții ale TRS similare celor prin *S. pyogenes*, mai ales faringite.

Factori celulari

Proteina M este cel mai important factor de virulență; date actuale o definesc ca asemănătoare pililor (ca un puf, *like-pili*), cu *rol în aderența* specifică la epiteliul faringian*, proprietate care favorizează colonizarea mucoasei, și cu *rol antifagocitar* ceea ce-i favorizează invadarea în țesuturi. Tulpinile lipsite de proteină M sînt avirulente. *Prin infecție aparentă sau inaparentă, individul se imunizează numai față de tipul, sau tipurile de streptococi, cu care a făcut infecții.* Purificată, proteina M este slab antigenică; înglobată în adjuvant, determină la animal seruri protectoare cu specificitate de tip.

Capsula de acid hialuronic are rol antifagocitar, dar nu este antigenică. La *S. pyogenes*, capsula este labilă (datorită faptului că acești streptococi secretă și hialuronidază), putînd fi pusă în evidență numai în produs patologic și în culturi foarte tinere, de 2—4 ore, înaintea acumulării de hialuronidază; (*S. zooepidemicus* și *S. equi*, neproducători de hialuronidază, formează capsule mari). Tulpinile producătoare de cantități mari de acid hialuronic formează colonii *mucoide*, care prin deshidratare devin *mate (matt)*.

Exoenzime — agresine

Mai bine studiate la *S. pyogenes* sînt cele două *hemolizine* sau streptolizine, streptochinaza sau fibrinolizina, hialuronidaza și streptodornaza:

— *Streptolizina „O"* (SLO), o proteină oxigen-labilă (eliberată și de alți streptococi umani ca *S. equisimilis* grup C, și streptococi grup G) este identică antigenic la toate tipurile; este antigenică determinînd în organism elaborare de antistreptolizină „O" (ASLO); în incubare anaerobă produce hemoliză clară tip *beta*.

— *Streptolizina „S"*, proteină stabilă la oxigen, responsabilă de hemoliza care înconjură coloniile pe geloza-sînge incubată aerob; este slab antigenică. (Este produsă și de *S. zooepidemicus* grup C; alți streptococi β-hemolitici produc hemolizine, diferite antigenic de la grup la grup).

Ambele streptolizine, și în special „O", posedă și *activitate leucolitică*, streptococii fagocitați determină liza granulelor citoplasmatice din PN și eliberarea enzimelor hidrolitice, difosfopiridinnucleotidază; are și acțiune *cardiotoxică*, injectată i. v. la animale de laborator determină stop cardiac letal.

— *Streptochinaza* (fibrinolizina) transformă plasminogenul din serul normal de om în plasmină activă proteolitic, care lizează chiagurile de fibrină și alte proteine; este factor de favorizare a extinderii infecției prin prevenirea formării barierei de fibrină; au fost diferențiate două tipuri antigenice, A și B. (Streptochinaza este produsă și de streptococi grup C, speciile *equisimilis* și *zooepidemicus*). Este antigenică, inducînd apariția de antistreptochinază.

— *Hialuronidaza*, datorită efectului litic asupra acidului hialuronic din țesutul conjunctiv, favorizează difuzarea infecției. (Hialuronidaze cu specificităţi antigenice de grup sînt produse şi de streptococi grup B, G, unele tulpini grup C, *equisimilis*).

---

* Sau de aderență la tegumente pentru tipurile mai frecvent izolate din piodermite.

— *Dezoxiribonucleaza* (streptodornaza) este o enzimă care depolimerizează DNA rezultat din dezintegrarea leucocitelor (care dă viscozitate exsudatelor purulente); există patru tipuri antigenice, A, B, C şi D; (B şi D hidrolizează şi ARN, în absenţa oxigenului, fiind şi *ribonucleaze*); sînt antigenice.

Variaţie genetică şi grad de virulenţă. Importanţa unor factori de patogenitate în patologia infecţiei streptococice este minimalizată uneori de experienţe prin care se încearcă inhibarea producerii infecţiei numai cu anticorpul specific factorului cercetat de autor (antihialuronidază, de exemplu). Rolul unui factor de virulenţă poate fi demonstrat numai prin inocularea la animale martor a *mutantului neproducător al factorului cercetat*, în paralel cu inocularea tulpinii producătoare, care se demonstrează mai virulentă (decît mutantul).

Virulenţa S. pyogenes, ca specie, este o sumă a potenţialului de *colonizare* (prin factor de aderenţă, proteina „M", *like-pili*), de *invadare* în ţesuturi (prin factori antifagocitari, capsulă şi proteină M), de *vătămare a celulelor* (prin citolizine, hemolizinele, difosfopiridinnucleotidază), de *alterare a structurilor necelulare* (prin hialuronidază, proteinaze, esteraze), plus *efectele toxice* ale unor factori de catabolism, ca acidul lactic; fiecare tulpină are un grad propriu de virulenţă dependent de factorii cu care este dotat.

Un rol important în apariţia variantelor de *S. pyogenes* revine mutaţiei; experimental, a putut fi indusă capacitatea de sinteză a proteinei M prin *transformare*, cu ADN liber. Se consideră că numărul mare de tipuri serologice M este o consecinţă a selecţiei de noi variante în organisme imunizate faţă de alte proteine M (de-a lungul filogeniei şi a comensalismului organism-microorganism). Această selecţie este posibilă pentru specii care infectează deseori fără a-şi omorî gazda, factorii presori selectori fiind anticorpii. Acest mecanism ar demonstra rolul deosebit, ca factor de virulenţă, al proteinei M la *S. pyogenes* (şi al polizaharidului capsular la *S. pneumoniae*), ca şi valoarea protectoare a Ig specifice (vezi subcap. următor, Selecţia).

Experimental, selecţia variantelor virulente, dintr-o populaţie bacteriană, poate fi obţinută prin inocularea la animale sensibile neimunizate; este şi metodă de recuperare a tulpinilor degradate de laborator (care au pierdut în mare măsură capacitatea de sinteză a proteinei M),

Habitat natural, inter- şi auto-contaminare, selecţia tipurilor „M"

Streptococii grup A sînt comensali temporari ai mucoasei rinofaringiene la adult, şi în tonsile, la copil.

Selecţie: individul care a făcut o infecţie aparentă, sau inaparentă, *netratată*, rămîne purtător temporar, imunizat. Ig specifice elimină treptat streptococii cu proteină M[*] selectînd astfel, eventual, mutante cu noi proteine M*. La neimunizaţi, fagocitele elimină streptococii nevirulenţi dar rămîn cei cu factorii antifagocitari, care înmulţindu-se dau infecţie, sau persistă pe mucoasă.

---

[*] Numeroase date sugerează că acest mecanism are loc prin opsonizarea streptococilor prin anticorpi anti-M, şi favorizarea fagocitozei, a lizei prin complement şi prin lizozim.

Intercontaminarea are loc prin picături Pflügge şi mîini murdare, atît de la bolnavi, de la purtători sănătoşi cît şi de la infectaţi inaparent.

S. pyogenes poate contamina bovine, producînd uneori mastite, şi, prin lapte nepasteurizat, recontaminează omul.

Ca urmare a modului de contaminare şi selecţiei, la un acelaşi individ şi într-o aceeaşi colectivitate, se înregistrează o fluctuaţie continuă de tipuri serologice şi grade de virulenţă a tulpinilor prezente pe mucoase. Numărul purtătorilor sănătoşi naso-faringieni variază de la 0 la 95%, în raport de:

spectrul de imunizare anti-proteine M a populaţiei; procentele de purtători fiind mai mari la copii, adolescenţi şi adulţi tineri;

frig şi umezeală, procente mai mari toamna şi iarna;

aglomeraţie, procente mai mari în cămine, şcoli, cazărmi;

condiţii de igienă, cu cît sînt mai bine asigurate, cu atît purtătorii sînt mai puţini;

tratarea, sau nu, şi a infecţiilor streptococice inaparente, ceea ce are rol în întreruperea intercontaminărilor.

Prin aceleaşi mecanisme, purtătorii naso-faringieni îşi *autoînsămînţează* tegumentele şi alte mucoase; persistenţa la aceste nivele este condiţionată de existenţa de alterări, mai ales plăgi: plagă uterină *postabortum*, *post-partum*, plăgi cutanate, escoriaţii, înţepături, putînd iniţia infecţii (puerperale, a plăgilor, erizipel, piodermite).

Piodermitele superficiale, mai ales la copii, se deschid uşor, fiind foarte contagioase; ca urmare, în zonele calde de pe glob, muştele reprezintă un mecanism frecvent de intercontaminare.

Purtătorul naso-faringian este foarte periculos în spitale şi mai ales în maternităţi.

Infecţii. Infecţiile streptococice pot evolua aparent, sau inaparent, numărul celor inaparente fiind de aproximativ 5 ori mai mare.

La poarta de intrare, cele mai numeroase infecţii în zonele temperate, sînt *faringitele*, în zonele calde de pe glob sînt *infecţiile cutanate* (piodermite, impetigo), *erizipel*, infecţie puerperală (punct de plecare plaga uterină).

Billroth (1894) a văzut streptococii în exsudatul din erizipel şi plăgi infectate; *Pasteur* (1879—1881) i-a pus în evidenţă în lochii şi în sîngele femeilor cu infecţie puerperală; au fost cultivaţi apoi din faringele copiilor cu scarlatină.

La individul imunizat antitoxic, aceste infecţii evoluează fără eritem scarlatinos. Fiecare nouă infecţie este dată de un alt tip de streptococ grup A, (sau de un alt grup serologic G, C, B, în ordinea frecvenţei).

Fiecare infecţie primară poate difuza dînd *limfadenite*, *celulite*, şi alte *complicaţii de vecinătate*, ca şi *bacteriemii — septicemii* (tabel 44).

---

* Noi tipuri de proteină M pentru *S. pyogenes* sînt din cînd în cînd descrise în literatură, ca şi tulpini netipabile.

Imunitatea antistreptococică. Infecțiile streptococice sînt imunizante; în ser apar *anticorpi protectori antiproteină M* și *neutralizanți față de agresine.* Imunizarea individului are loc treptat*, pe măsura repetării infecțiilor, atît față de proteine M, cît și față de diferite tipuri antigenice ale agresinelor (tabel 43); ca urmare, cu înaintarea în vîrstă, infecțiile streptococice sînt tot mai rare și mai puțin grave, (dar complicațiile alergice, deși mult mai rare, sînt foarte grave).

3. FACTORI DE SENSIBILIZARE ȘI BOLI POSTSTREPTOCOCICE, ALERGICE

1977, a fost anul mondial al reumatismului (OMS), subliniindu-se încă odată importanța medicală a problemei și faptul că boala cardiacă reumatismală este singura din bolile cardiace care poate fi prevenită, prevenind infecția.

Gravitatea infecțiilor streptococice netratate precoce constă în posibilitatea apariției complicațiilor tardive alergice, nesupurative; acestea se instalează la 1—4 săptămîni după debutul infecției (timpul necesar apariției de Ac) și indiferent dacă streptococii mai sînt, sau nu, prezenți la poarta de intrare. Cele mai periculoase din acest punct de vedere sînt, în prezent, *infecțiile inaparente*, care, rămînînd cel mai adesea netratate, induc nivelele înalte de Ig și astfel procente mari de complicații alergice.

Aceste complicații pot evolua *acut*, sau, într-un procent mai redus, *cronic*, cu manifestări renale, *glomerulonefrită acută* (GNA), uneori cronică (GNC), sau ca febră reumatismală cu prinderea articulațiilor, *reumatism articular acut* (RAA), degenerînd uneori în artrită reumatismală cronică, fără, sau cu complicații cardiace, *cardita reumatismală* (CR), *coree***, *eritem nodos.*

Glomerulonefrita poststreptococică

Este practic demonstrat că GNA este inițiată prin mecanism de sensibilizare tip III sau tip boala serului, numit și *sindromul complexelor „toxice"*, Ag-Ac (v. cap. XX). Complexele imune formate în circulație și reținute pe filtrul renal pe membrana bazală glomerulară (m. b. g.), inițiază leziuni locale cu tulburări funcționale; are loc activarea sistemului enzimatic C′, stimularea fagocitozei în celula mezangială, mobilizarea de PN cu stimularea fagocitozei și degranulare, mobilizarea plachetelor, cu activarea coagulării în capilare și necroze consecutive; m. b. g. apare impregnată cu complexe imune și devine permeabilă pentru proteinele sangvine. Importanța infiltratului celular și a alterărilor este dependentă de cantitatea de complexe imune depozitate pe m. b. g. și C′ activat. Alterările funcționale de filtru renal se însoțesc de albuminurie, hematurie, edeme, hipertensiune.

---

* După unii cercetători infecțiile streptococice la același individ s-ar repeta la 2—5 ani. Statisticile în Anglia arată că, în medie, un individ face 7 streptococii în timpul vieții sale.
** Mișcări involuntare, bruște, neregulate, tulburări mintale.

Complexele Ag + Ig + C' pot fi vizualizate la m.e. prin marcare cu seruri *antiglobulină* umană, sau *anti*-C_3', sau *antistreptococ tip 12**, la rîndul lor marcate cu feritină ; pot fi vizualizate la microscop cu UV prin marcarea acelorași seruri cu izotiocianat de fluoresceină (pe biopsii renale, sau la necropsie). Consumul de C' poate fi pus în evidență prin teste de dozare a complementului total sau a componentei C_3'.

Procesul inflamator se resoarbe cel mai adesea, se *vindecă* ; uneori însă, repararea are loc prin hialinizare și fibrozare, cu arii de atrofie definitivă. *Cronicizarea* s-ar datora apariției de autoanticorpi față de m. b. g. alterată de procesul acut, GNC fiind încadrată patogenetic ca boală de autoagresiune, prin mecanism citotoxic (tip II), posibilitate demonstrată și în experimente cu ser anti — m.b.g. (nefrita nefrotoxică). Posibilitatea cronicizării este mai mare la adulți, explicată prin infecțiile repetate și, astfel, hipersensibilizare.

GNA apare la 0,3 pînă la 23% din cei care fac infecții streptococice ; procentele foarte mari, 10—23%, reale epidemii de GNA, au fost înregistrate după infecții date de *tipurile nefritogene* 12, 1, 2, 4, 18, 25, 49 *(Red-Lake)*, 55, 57 . . . În epidemii, pînă la 50% din adulți, mor sau fac GN cronică ; la copii, procentul de letalitate este sub 10%.

Nu se cunoaște care este antigenul nefritogen, streptococic, acela care participă la formarea complexelor „toxice" ; s-a constatat însă că serul *global* antistreptococ tip 12, de exemplu, pune în evidență pe m. b. g. alterată, antigene streptococice. Date recente aduc dovezi că și infecții cu streptococi de grup G și specia *S. zooepidemicus* de grup C, pot fi nefritogene (*E. Duca* și colab., 1969). În acest caz, antigenul (-ele) nefritogen ar fi comun acestor streptococi de grup A, C, G.

Febra reumatismală

Aceasta se manifestă cel mai adesea ca *RAA*, artrite și poliartrite migratorii, mai rar *cardită reumatismală* (CR), *eritem nodos* (fenomen subacut), *coree* (fenomen cronic), manifestări care pot apare și separat. Cardita nu se instalează de la primul atac de RAA la toți bolnavii, dar fiecare nouă infecție streptococică aparentă, sau inaparentă, la un individ care a avut un prim puseu reumatismal, crește cu aproximativ 30% posibilitățile de implicare cardiacă, agravînd leziunile miocardice existente.

În ce privește mecanismul imunopatogenic, există date care pledează pentru un mecanism *citotoxic* (tip II), datorat existenței antigenului lipoproteic comun membranei citoplasmatice (m. c. p.) a streptococilor grup A** și sarcolemei miofibrilei cardiace (ca și altor mușchi striați), care, în acest caz, ar reprezenta factorul reumatogen. În serul bolnavilor cu CR au fost puși în evidență astfel de autoanticorpi la titru înalt. Leziunile de miofibrilă duc la tulburări funcționale, de debit sangvin, care favorizează depunerea de fibrină pe valvule (tabel 29).

---

* Dacă infecția a fost dată de *S. pyogenes* tip 12, mai ales.

** Antigenul lipoproteic al m. c. p. este diferit la alte grupe serologice de streptococi, ceea ce ar explica de ce *S. pyogenes* este singurul reumatogen.

0,5—3% din infectaţi fac astfel de complicaţii alergice; (din aceştia, 42% fac numai RAA, 43% fac RAA + CR, 7% fac coree)*. Cardita reumatismală este periculoasă prin: (i) letalitatea ridicată în faza acută (aprox. 15%) şi decesul, care la 50% din bolnavii ce au depăşit faza acută survine în următorii 20 de ani (în ţara noastră 3,3 din 100 000 decese sînt prin RAA şi CR) şi prin (ii) posibilităţile de infecţie a leziunilor valvulare (e. b. s.), (v. subcap. B.).

Aceste date demonstrează că profilaxia complicaţiilor tardive poststreptococice este o importantă problemă de sănătate; ea se bazează pe organizarea diagnosticului microbiologic şi serologic al infecţiei streptococice şi supravegherea epidemiologică a colectivităţilor (şcolari şi tineri) din punctul de vedere al apariţiei scarlatinei şi anginelor streptococice.

4. DIAGNOSTIC

Diagnosticul etiologic în scarlatină şi infecţii clinice

Diagnosticul este bacteriologic. Produsele patologice (exsudat faringian în scarlatină şi angine, exsudate purulente sau seroase din piodermite, erizipel, colecţii diferite, plăgi) sînt însămînţate pe geloză-sînge de iepure; după 24 de ore, coloniile apar tipice, cu halou de hemoliză clară pentru streptococii producători de hemolizine S, grupele A, B, C, G.

Identificarea serogrupului A se face, prezumtiv, prin testul de sensibilitate la bacitracină, şi serologic, în test de precipitare folosind seruri imune de grup.

Pentru a pune în evidenţă şi streptococi care produc numai hemolizină O (grup G, variante neproducătoare de hemolizină S aparţinînd grupului A), se recomandă însămînţarea, în paralel, în plăci turnate**, sau incubare anaerobă a plăcii cu geloză-sînge; coloniile cresc în profunzime, la adăpost de oxigenul liber, şi dau colonii cu halou mare de hemoliză clară.

Interpretare. (i) Izolarea unui streptococ grup A din angine (cu sau fără exantem) este criteriul admis de confirmare a etiologiei streptococice; (chiar în cazul anginelor virale la purtător de *S. pyogenes*, terapia este indicată). (ii) Izolarea în cultură pură din produs normal steril (sînge, colecţii închise, LCR, seroase), indiferent care este grupul serologic, este criteriul suficient de implicare ca agent etiologic în infecţia respectivă. (iii) Izolarea unui streptococ de alt grup serologic (B, C, G etc.) din produse contaminate (faringe, lochii, plăgi) necesită criterii suplimentare de implicare etiologică: izolare în cultură pură, sau izolare concomitentă dintr-un produs normal steril (sînge, biopsii ganglionare), sau serodiagnostic pozitiv pentru tulpina izolată.

Diagnosticul infecţiei streptococice inaparente

Diagnosticul infecţiei inaparente este serologic şi retrospectiv. Deoarece fiecare individ face în cursul vieţii mai multe infecţii, în serul persoanelor sănătoase există diferiţi Ac antistreptococici la titruri variate; de aceea,

---

* Date medii.

** Tamponul faringian este spălat într-un ml bulion; 0,1 ml sînt înglobaţi în geloza topită şi răcită la 45°C, odată cu sîngele, şi turnat, în strat de 2 mm grosime, în placa Petri; plăcile sînt examinate după 24 şi 48 ore de incubaţie la 37°C.

diagnosticul de infecție inaparentă se bazează pe punerea în evidență a apariției, sau creșterii de cel puțin 4 ori a titrului Ac.

În alegerea momentului pentru recolte de ser, orientarea o dau cazurile clinice (angine, scarlatine) apărute în aceeași colectivitate.

Cel mai folosit test serologic este determinarea titrului antistreptolizinei O (ASLO), streptolizina O fiind unul din cele mai imunogene și constante antigene streptococice; este un test de neutralizare.

Teste ajutătoare pentru diagnosticul complicațiilor alergice poststreptococice

(i) *Determinarea titrului ASLO* confirmă dacă în săptămînile anterioare, individul a avut o infecție streptococică, sau nu; un procent mai mare de rezultate pozitive poate fi obținut prin determinarea și a altor Ac: antistreptochinaza A, B, antihialuronidază etc (tabel 43).

(ii) *Dozarea complementului seric*, global, sau a fracțiunii C_3; în mod normal, în ser, sînt prezente aproximativ 100 ± 28 UH 50% (unități de alexină în lectura hemolizei 50%); indiferent de tehnica folosită, hipoalexinemii se consideră reducerile de cel puțin 50% din valorile prezente la normali. În GNA, titruri sub 50% se mențin timp de 3—6 săptămîni. (Precauții speciale de recoltare și conservare a serului sînt necesare pentru a evita false scăderi de titru, avînd în vedere labilitatea complementului în mediul extern).

(iii) *Examenul bacteriologic* din exudat faringian și nazal; deoarece complicațiile apar în urma infecției netratate, sau incorect tratate, streptococii mai sînt uneori prezenți în momentul apariției complicației și pot fi izolați; izolarea în GNA a unui tip recunoscut nefritogen, de exemplu tip 12, are valoare diagnostică.

(iv) *Punerea în evidență a complexelor imune* pe m. b. g. în biopsie renală (v. în text).

5. SENSIBILITATEA LA ANTIBIOTICE, TERAPIA INFECȚIEI ȘI PROFILAXIA COMPLICAȚIILOR ALERGICE

S. pyogenes este natural sensibil la majoritatea antibioticelor, exceptînd polimixinele și acidul nalidixic; și-a păstrat 100% sensibilitatea la penicilinele de biosinteză G și V, dar a devenit rezistent, în procente variabile, la toate celelalte antibiotice (60% la tetracicline, 40% la streptomicină și sulfamide etc.). Antibioticul de elecție este penicilina.

Terapia infecției

Penicilina G și/sau V, în doze zilnice de 800 000 U la copil și 1 200 000 U la adult, timp de 10 zile, determină sterilizarea bacteriologică a țesuturilor și mucoaselor; persistența streptococului în faringe, după o cură corectă, indică existența unei complicații supurative mai profundă, amigdalită criptică, sinuzită etc., care necesită repetarea curei, și, uneori, intervenția chirurgului.

Profilaxia complicațiilor alergice

— *Profilaxia primară* constă în terapie precoce și corectă a tuturor infecțiilor, aparente și inaparente. Diagnosticul serologic al infecțiilor inaparente fiind retrospectiv, deci inoperant în acest scop, criteriile de includere la cura de penicilină și a indivizilor cu infecții inaparente sînt epidemiologice: apariția bolii streptococice (angine, piodermite) la 1—3% din efectivul unei colectivități închise, impune administrarea curei de P. la toată colectivitatea.

— *Profilaxia secundară, a reșutelor de RAA și CR*, se bazează pe profilaxia reinfecțiilor streptococice, la individul care a avut un prim atac de febră reumatismală, prin administrarea continuă, sau sezonieră de penicilină (scheme diferite).

6. PROFILAXIA INFECȚIEI

Vaccinarea, care ar fi metoda ideală de profilaxie în masa populației, este încă nerezolvată; dar este de reținut, că multe vaccinuri polimicrobiene foarte utilizate, au în compoziția lor diferite tipuri de *S. pyogenes*.

Metodele nespecifice de profilaxie se demonstrează eficiente și constau în:

— evitarea aglomerațiilor;
— evitarea răcelii și a umezelii;
— igiena orofaringelui prin periaj cu paste de dinți, gargarisme cu foarte ușoare antiseptice, igiena narinelor cu apă și săpun;
— igiena mîinilor cu apă și săpun;
— în maternități și spitale de pediatrie, depistarea și decontaminarea purtătorilor de *S. pyogenes* este obligatorie.

B. STREPTOCOCI VIRIDANS ȘI ENDOCARDITA BACTERIANA SUBACUTA

Streptococii *viridans* sînt un grup neomogen de specii rezidente pe mucoasa TRS și în gură, care, cel mai adesea, înverzesc geloza-sînge în jurul coloniilor, heterogeni biochimic și serologic (tabel 42); determină cele mai multe din endocarditele bacteriene subacute (e. b. s.)*:

S. mitis, cel mai constant pe mucoasa bucală, tipic *alfa*-hemolitic, de 0,6—0,8 μm ⌀, în lanțuri lungi; foarte heterogen serologic; (unele tulpini dau reacții pozitive cu seruri de grup Q, O, N); determină cam jumătate din e. b. s. date de streptococii *viridans*.

---

* 10—20 % e. b. s. sînt date de stafilococi *epidermidis*, 10 % sînt date de bacili gram-negativi, levuri, specii *Propionibacterium* și alți rezidenți ai tegumentelor și mucoaselor, un procent foarte redus revine e. b. s. prin saprofiți ai mediului extern care contaminează temporar mucoasele (ca *Acinetobacter* etc., v. cap. XXIII și XXIV).
Orice leziune cardiacă favorizează fixarea bacteriilor (uneori și a fungilor), putînd deveni sediul unei endocardite. Leziunile cardiace pot fi congenitale și mai adesea dobîndite, fie postinfecțios (cum este cardita reumatismală), fie posttraumatism chirurgical sau explorator, proteze valvulare etc. Endocarditele cu bacterii condiționat patogene evoluează acut (*Staph. aureus, Str. pneumoniae)*, cele prin bacterii accidental patogene evoluează lent, subacut (e. b. s.).

S. sanguis aparține serogrupului Lancefield H și are 5 serotipuri; este *alfa*-hemolitic; are 0,8—1,2 µmØ; lanțuri lungi; sintetizează dextran din sucroză în bulion și pe geloză incubată anaerob, dînd colonii mucoide; predomină în placa bacteriană dentară; determină e. b. s.

S. salivarius, 0,8— 1 µmØ; alfa-hemolitic cu variante *gama*- și nehemolitice; sintetizează levan și dextran pe medii cu 5% sucroză și rafinoză, dînd colonii mucoide; foarte heterogen serologic; unele tulpini (tip I) dau reacții pozitive cu ser de grup K; prezent mai ales în salivă și pe limbă; determină un număr mai redus de e.b.s. decît speciile precedente.

S. anginosus (sinonim cu *S. minute* sau MG); coci mici de 0,5 µmØ și colonii mici; prezent în nazo-faringe și pe piele, rareori evidențiat în e. b. s.; aparțin grupelor serologice F și G; are relații antigene cu *Mycoplasma pneumoniae*, fiind aglutinat de serul bolnavilor cu pneumonie atipică primară (PAP) dată de această bacterie; (aglutinarea streptococului MG cu serul bolnavului este test ajutător pentru diagnosticul de PAP, prin *M. pneumoniae*; v. cap. XXXV).

PATOGENITATE

Două treimi din e. b. s. sînt date de streptococi: peste 90% din acestea sînt date de specii *viridans* (în ordinea frecvenței de *S. mitis*, *S. sanguis*, *S. salivarius*); restul sînt date de *S. faecalis*, rar de *S. bovis*; au fost semnalate e. b. s. cu streptococi grup M.

Endocarditele bacteriene subacute cu streptococi *viridans* au cel mai adesea punct de plecare oral; cele cu enterococi și bacili gram-negativ au poartă de intrare prin mucoasa genito-urinară.

S. viridans sînt bacterii tipic accidental patogene, lipsite de factori de virulență; posibilitatea de a da infecție este strict dependentă de existența leziunilor valvulare și accesul pasiv al bacteriei pînă la aceste leziuni. Prezența masivă și constantă pe mucoasa orală și în placa dentară, numărul mare de infecții gingivale, radiculare, amigdaliene etc., asigură acestor streptococi accesul frecvent în sînge prin rupturi vasculare provocate de variate microtraumatisme (extracții, amigdalectomii, masaje gingivale, detartraj, masticație etc.)*. Depozitele de fibrină** sînt în special favorabile înmulțirii streptococilor, la adăpost de fagocite (fig. 82).

Acest aspect a fost subliniat încă din 1938 de *Friedman* și colab. (Arch. Int. Med. *61*), care demonstrau creșterea luxuriantă în fibrină și în același timp lipsa înmulțirii în sînge agitat datorită lipsei de rezistență la fagocitoza prin PN, (spre deosebire de streptococii beta-hemolitici); acest aspect

---

* Bacteriemii postextracționale au loc cu o frecvență de 15—75%, în medie; pînă la 69% înregistrate după extracții multiple; 7% bacteriemii după masticație, detartraj, masaj gingival; 11% în piorei dentare.

** Depunerea depozitelor de fibrină în cardiopatiile valvulare poststreptococice *(S. pyogenes)* și congenitale este favorizată de tulburările hemodinamicii din aceste boli.

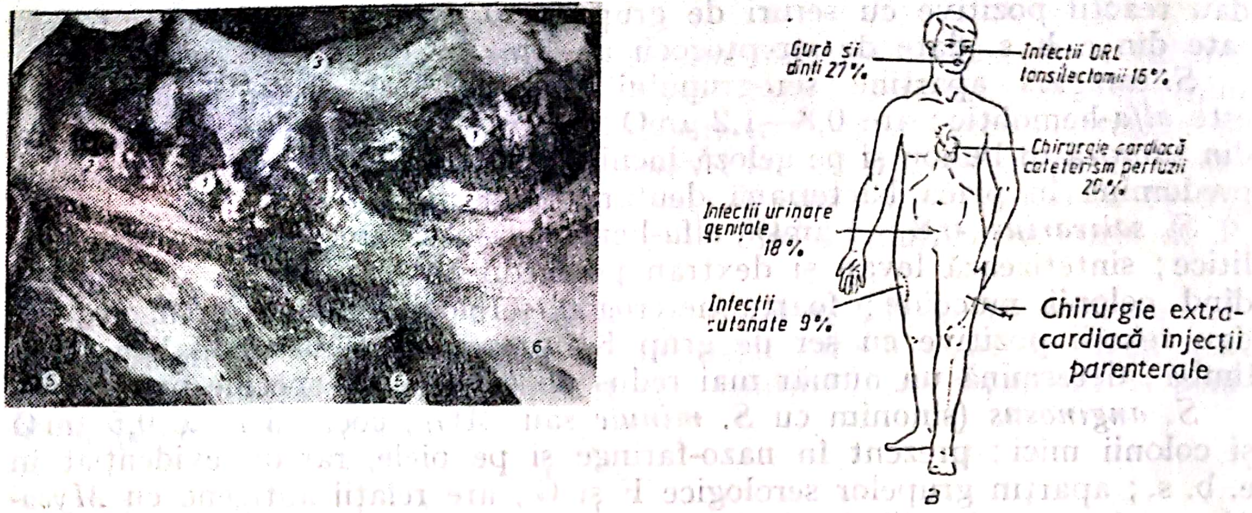

1
2
3
4
5
6
Gură și dinți 27 %
Infecții ORL tonsilectomii 15 %
Chirurgie cardiacă cateterism perfuzii 20 %
Infecții urinare genitale 18 %
Infecții cutanate 9 %
Chirurgie extracardiacă injecții parenterale
a

Fig. 82 : *A*. Endocardită bacteriană pe orificiu aortic (ventricul stîng, aortă deschisă) : 1. vegetații pe sigmoidele aortice; 2. perforații ale sigmoidelor; 3. aorta deschisă; 4. îngroșarea endocardului; 5. ventricul stîng deschis.

B. Infecții primare, surse de bacterii care dau endocardite. (Reproduceri din Actualites odontostomatologiques nr. 94, p. 165 și 178, 1971).

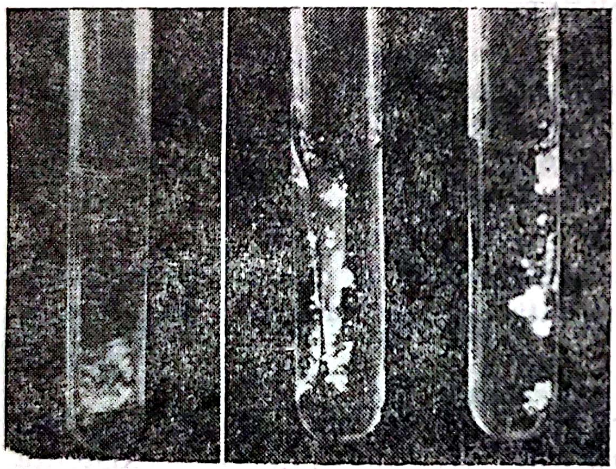


Fig. 83 : Hemocultură pe chiag de fibrină; colonii de 48 ore — streptococ *viridans* (*E. Duca, E. Tomescu*, 1960).

a fost verificat și de noi prin practicarea cu bune rezultate a *hemoculturilor pe cheagul de fibrină*, în care streptococii cresc luxuriant, dînd colonii de 3—5 mm Ø, și posibilitatea cuantificării (fig. 83).

DIAGNOSTICUL E B.S.
(v. cap. XXI, 9)

Hemocultura pozitivă confirmă diagnosticul de endocardită și permite alegerea corectă a tratamentului. Recoltele se fac în acmeea febrilă și, ori de cîte ori este posibil, în timpul frisoanelor care indică descărcări bacteriene în sînge; se fac 2—4 hemoculturi pe zi, 5—10 în total, înainte de începerea tratamentului. Corect executate, hemoculturile se pozitivează în 80% din cazuri și chiar mai mult. Uneori streptococii cresc încet, fiecare hemocultură trebuind urmărită două săptămîni înainte de a afirma că este negativă. Identificarea de grup viridans se face pe baza tipului de hemoliză și absența precipitării cu ser imun de grup D; identificarea speciei este biochimică (Tabel 42).

TRATAMENT

Orientarea terapei diferă după cum este vorba de e. b. s. cu hemoculturi pozitive sau negative:

Terapia în e.b.s. cu hemoculturi pozitive

Dacă s-a izolat *S. viridans*, se efectuează antibiograma cantitativă pentru penicilină G, deoarece, deși sensibil ca specie la P, sensibilitatea tulpinilor este diferită, și tulpini foarte rezistente sînt întîlnite uneori. Doza terapeutică medie este de 3—5 milioane UP/zi, adaptată în raport de CMC (concentrația minimă cidă); doza aleasă este adecvată dacă serul pacientului, în diluție 1/8, sau mai mare, omoară bacteria izolată; în cazul că diluția cidă este mai mică, se mărește proporțional doza de penicilină și se reverifică eficiența prin testul bactericid al serului. Pentru bolnavii sensibilizați la penicilină, determinările se fac pentru alt A. bactericid, eritromicine, cefalosporine. Penicilina poate fi folosită în caz de alergie după prealabilă desensibilizare (Mayo).

Terapia în e.b.s. cu hemoculturi negative

Se administrează tratamentul ca pentru enterococ (v. cap. următor), eficient și pentru *S. viridans* (deoarece majoritatea acestor endocardite sînt streptococice); streptococii sînt prezenți în sînge în număr mic și persistă puțin, încît sînt greu de surprins. Endocarditele cu stafilococi și bacilii gram-negativ nu dau hemoculturi negative.

PROFILAXIA E.B S.

La bolnavi cu cardiopatii valvulare se recomandă antibioticoprofilaxie, cu maximum o oră anterior oricărei intervenții chirurgicale; în intervenții stomatologice și ORL, profilaxia prevede în special posibilitatea contaminării cu streptococi *viridans*, în intervenții genito-urinare-intestinale, în special pe cele cu *S. faecalis*.

C. STREPTOCOCCUS FAECALIS SAU ENTEROCOCUL

S. faecalis face parte, alături de streptococii și bacilii lactici, din flora normală acidofilă a colonului contaminînd mucoasa vaginală și uretra (dînd un procent de ITU), prin mîini murdare ajunge pe mucoasa buco-faringiană și în alimente (a fost descris, mai rar, în toxiinfecții alimentare), prin poluare fecală ajunge în ape (și este folosit uneori ca indicator de poluare fecală a apelor).

Cocii sînt ovalari, de 0,5—1 µm ∅, așezați în perechi sau lanțuri scurte; în general imobili; există și tulpini mobile (fiecare coc are un cil așezat polar sau subpolar; (fig. 15).

Formează colonii S, mai mari decît cele date de streptococi *beta*-hemolitici, care pot fi confundate cu cele de stafilococi albi și micrococi; *S. faecalis* este nehemolitic; *S. faecalis* varianta *zymogenes* este hemolitic.

Vitalitatea este mare: se dezvoltă între limite largi de temperatură (10°—45°C), crește la *p*H 10, în medii cu 6,5% ClNa, pe geloză cu 40% bilă, în mediu cu 0,05% azid de sodiu, rezistă 30 min. la 62°C; are o rezistență naturală înaltă la penicilină (CMI = 0,5—1 U/ml) și cefalosporine, ceea ce îl diferențiază de *S. viridans.*

S. faecalis (ca și enterococii cu habitat animal) aparține grupului serologic D, cu 11 serotipuri; unele tulpini produc hialuronidază.

Patogenitate. Determină aproximativ 10% din endocarditele bacteriene lente* și un procent mai redus de infecții ale tractusului urinar, rareori menționat în meningite, peritonite; este una din bacteriile frecvent asociate în infecțiile cu floră mixtă ale plăgii uterine, arsuri, plăgi anfractuoase.

Diagnosticul infecțiilor cu enterococ este numai bacteriologic.

Metodologia diagnosticului de e.b.s. este aceeași ca pentru *S. viridans* (subcapitolul anterior).

Diagnosticul de ITU se bazează pe *urocultura—cantitativă;* metoda permite diferențierea culturilor pozitive date de bacteriile de contaminare a uretrei anterioare (⩽ 10 000 colonii/ml urină), de cultura dată de bacteriile care s-au înmulțit în urina vezicală (⩾ 100.000 colonii/ml urină).

Diagnosticul toxiinfecțiilor se bazează pe: (i) găsirea aceleiași variante (*S. faecalis* sau varianta hemolitică *zymogenes*) și biotip (tabelul nr. 2) în scaunul bolnavilor și în alimentul incriminat și (ii) găsirea unui foarte mare număr (100.000) de unități formatoare de colonii per gram de aliment.

Identificarea S. faecalis se bazează, în primul rînd, pe punerea în evidență a antigenului de grup serologic D, prin test de precipitare cu ser specific și teste biochimice (tabel 42).

Terapie: demonstrarea rezistenței la peste 0,5 UP/ml este suficientă în scopul terapiei de urgență a e. b. s.; indică enterococ și necesitatea administrării asociației sinergice penicilină + streptomicină în doze mari (20—50 000 000 P + 1 — 2 g S, timp de 4 — 6 săptămîni).**

Sensibil la vancomicină și în procente ridicate la ampicilină, nitrofurantoin, eritromicină, recomandate la bolnavi sensibilizați la P. Dobîndește cu ușurință rezistență la A; în prezent, aproximativ 22% tulpini ar fi rezistente la toate A-ele, și în procent mare la S, E, T.

Profilaxia *ITU,* alături de asigurarea micțiunii în ritm fiziologic, igiena intimă riguroasă este singura metodă importantă; profilaxia toxiinfecțiilor alimentare, în tabel 136.

D. STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE SAU PNEUMOCOCUL

> „Pneumonia și meningita pneumococică sînt infecții care amenință viața cînd afectează persoane la cele două extreme ale vieții. S-a recunoscut că un vaccin față de cele mai obișnuite tulpini de pneumococi este în special necesar pentru persoane peste 50 de ani; un astfel de vaccin este în faza de experiment clinic" (*J. Infect. Dis.*, *134*, 5, 510, 1976).

S. pneumoniae este un comensal obișnuit al mucoasei TRS la om și multe animale; a fost izolat pentru prima dată de *Pasteur* în 1881; a fost

---

* Enterococul s-ar fixa și pe valvule normale.

** Asociația vancomicină + S este de asemenea sinergică.

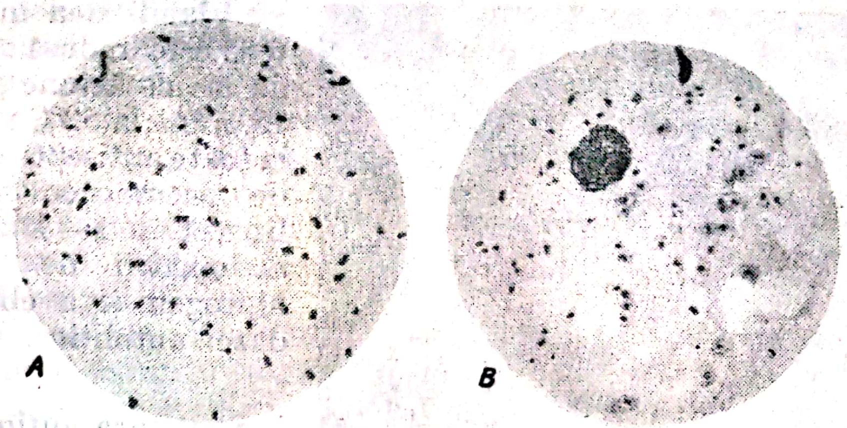


Fig. 84: *S. pneumoniae*: *A*. (frotiu din cultură), *B*. (frotiu din produs patologic).

recunoscut ca agent etiologic al pneumoniei de *Talamon* (1883), *Babeş* (1884), *Frankel*, *Weichselbaum* (1886); sînt cunoscute 80 de serotipuri.

Morfologie, colorabilitate. Coci ovali lanceolaţi (în flacără de lumînare), de 0,5/1,25 µm ∅; aşezaţi în perechi (diplococi), cap la cap (capătul distal ascuţit); imobili, nesporulaţi, gram-pozitiv. În produse patologice (spută, puroi, LCR, puroi pleural etc.) şi primoculturi obţinute din infecţii (bulion cu 10% ser), pneumococii sînt capsulaţi*; capsula apare ca un halou necolorat în jurul diplococilor coloraţi gram, cu albastru de metilen, sau metoda cu tuş de China; aspectul este foarte caracteristic (fig. 84).

Cultivă bine pe medii bogate (10% ser, sînge, glucozate 0,2%), la *p*H 7,4—7,8; la izolarea din organism cultivă mult mai uşor în atmosferă cu 5—10% CO_2 (sau în mediile la care s-a adăugat o substanţă reducătoare, cisteină ori thioglicolat).

Pe geloză-sînge, majoritatea tipurilor dau colonii mici de 0,5—1 mm∅; cele aparţinînd tulpinilor capsulate, virulente, sînt de tip S *(smooth)*, transparente, strălucitoare, ca picături de rouă; pneumococii necapsulaţi formează colonii R, opace, turtite, zbîrcite (văzute la lupă). Tulpinele producătoare de mari cantităţi de polizaharid capsular (adesea pneumococi tip 3) dau colonii mari, 1—3 mm ∅, *mucoide*.

Produc o hemolizină identică cu streptolizina O, datorită căreia, pe geloză-sînge incubată aerob, coloniile se înconjură de un mic halou de α-hemoliză, asemănător celui dat de streptococi *viridans*; în anaerobioză, determină hemoliză tip β.

Caractere biochimice (tabel 42). Pneumococul este lizat de bilă** (bila activează o amidază autolitică ce clivează legătura alanină — acid muramic din peptidoglican); este sensibil la 1/400 optochin***, rareori în zona de inhibiţie a creşterii se pun în evidenţă mutanţi rezistenţi; fermentează constant inulina. Aceste caractere îl diferenţiază de streptococii *viridans*.

---

* Capsula este mare în faza de creştere logaritmică a culturii, cînd sinteza este maximă; devine apoi tot mai mică deoarece materia capsulară difuzează în mediu.

** La 0,5 ml cultură proaspătă în mediu lichid se adaugă bilă în volum de 0,1—0,5 ml sau 10% taurocholat ori dezoxicholat de Na.

*** Etilhidrocuprein hidroclorid.

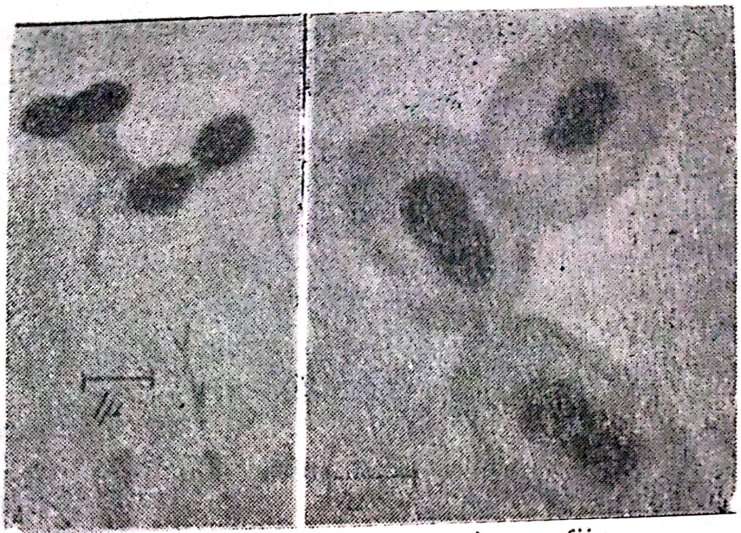


Fig. 85: Electronomicrografii: A. *S. pneumoniae* tip 3 cu ser tip 1 (nici un efect asupra capsulei); B. *S. pneumoniae* tip 3 cu ser tip 3 (umflarea specifică a capsulei). (*Thompson*. „Microbiol. and Epid.", 1958, p. 391).

Viabilitatea în mediul extern este redusă: moare repede la uscăciune și UV; în 15 min. la 52°C; este sensibil la toate antisepticele. Culturile de pneumococ se autosterilizează în 3—4 zile, datorită acumulării de peroxid de hidrogen și a eliberării amidazei autolitice.

Structura antigenică

Polizaharidul capsular. Specia *S. pneumoniae* este foarte heterogenă datorită variației de structură a polizaharidului capsular, care împarte specia în cel puțin 80 de tipuri.

Identificarea tipului antigenic se face cu seruri specifice de tip în reacții de *aglutinare* sau *umflarea capsulei**; umflarea capsulei este o consecință a reacției de precipitare dintre haptenul polizaharidic și Ig specifică (fig. 85).

Identificarea tipului de pneumococ, în scop epidemiologic, se face începînd cu serurile specifice față de tipurile care dau cele mai frecvente îmbolnăviri: 1, 2, 3 (peste 50% din infecțiile la adult), 14 (frecvent la copii), 5, 7, 8, 12 etc.

În diagnosticul microbiologic la bolnav, importanța identificării serotipului a dispărut odată cu descoperirea penicilinei care a înlocuit seroterapia.

Proteine M, similare celor prezente la *S. pyogenes* grup A, au fost puse în evidență în peretele pneumococilor; au specificitate de tip, dar care nu se suprapune tipurilor diferențiate de polizaharidele capsulare; nu ar avea relație cu virulența.

Substanța C este un carbohidrat de perete, specific speciei (analog antigenului de grup *Lancefield*). Datorită acestui hapten, pneumococul dă reacții serologice încrucișate cu alte bacterii și cu globulele roșii, substanța C făcînd parte din structura complexă a *antigenului Forssman* (v. cap. XV). Substanța C este precipitată în prezența ionilor de Ca de o β-globulină serică anormală, numită *proteina C-reactivă*, care pare că provine din celule necrozate în arii de intensă inflamație a ficatului, prezentă în faza acută a unor boli (poate, un autoanticorp).

FACTORI DE PATOGENITATE

Pneumococul este o bacterie *virulentă*, netoxigenă, probabil sensibilizantă.

---

* O picătură de ser se amestecă cu o picătură de spută, puroi sau cultură tînără, se lasă pînă la 10 min. la termostat, se prepară frotiuri, se colorează cu albastru de metilen; se examinează cu obiectiv cu imersie.

Capsula polizaharidică este cel mai important factor de virulență, care asigură bacteriei rezistența la fagocitoză și, astfel, capacitatea de înmulțire în alveola pulmonară (și alte zone). Cu cît o tulpină produce mai mult polizaharid capsular, cu atît este mai virulentă; pneumococul tip 3 care produce cele mai mari capsule, determină și cea mai mare rată de mortalitate. Este bine demonstrată și valoarea lui vaccinantă: animalele imunizate cu polizaharid capsular sînt rezistente la infecția cu tipul omolog de pneumococ (imunoglobulinele specifice au valoare opsonizantă favorizînd fagocitoza).

Pneumolizina sau hemolizina pneumococică este imunologic înrudită cu hemolizina O (oxigen labilă) eliberată de streptococii β-hemolitici grup A, C, G și este similară ca activități biologice: hemolitică, leucolitică și dermonecrotică, contribuind activ la formarea puroiului.

Antigene sensibilizante (?). S-a constatat că polizaharidul tip 14 dă reacții serologice încrucișate cu un Ag eritrocitar (profund plasat față de antigenele A, B, H) încît, anemia hemolitică descrisă la copiii care s-au vindecat de o infecție cu pneumococ tip 14, ar fi inițiată de Ac antipneumococici care funcționează ca autoanticorpi față de determinanți antigenici eritrocitari.

Patogenitate experimentală; pneumococul capsulat este foarte patogen pentru șoarecele alb; inoculat s. c. sau i. p. produce septicemie mortală; la necropsie, diplococi tipici capsulați sînt prezenți în frotiuri de sînge și splină. Patogenitatea pentru șoarece diferențiază pneumococul de streptococii *viridans* avirulenți. (Pneumococul determină epizootii la maimuțe, cobai, șobolani de crescătorie, infecții sporadice la animale domestice, cîine).

Variația genetică a patogenității pneumococului este frecventă; variația S-R echivalează cu pierderea proprietății de a sintetiza capsula, a rezistenței la fagocitoză, a capacității de a iniția infecție. Această variație este adesea demonstrată prin pasaje succesive pe medii de cultură artificiale care, dintr-o tulpină S, selectează mutante R.

Variația S-R este demonstrată și prin inocularea tulpinii R la șoarece; bacteriile necapsulate sînt ușor și repede fagocitate; dacă tulpina conține mutanți S, aceștia rezistă fagocitozei, se înmulțesc și omoară.

Patogenitatea pneumococului, infecții la om, imunitate

Condiționare. Pneumococul este o bacterie condiționat patogenă; unul sau mai multe serotipuri pot fi prezente pe mucoasa TRS la 1/2—2/3 din indivizii sănătoși. Apariția infecției este condiționată de factori care alterează mucoasa: ca *infecțiile virale respiratorii* care

(i) paralizează cilii vibratili și determină stagnarea fluxului normal al mucusului spre exterior; (ii) măresc secreția de mucus nazal și îl fluidifică favorizînd aspirația acestuia pînă în bronșiole și alveolele pulmonare însămînțîndu-le cu bacterii; (iii) produc necroza straturilor superficiale ale epiteliului favorizînd pătrunderea și colonizarea pneumococului în straturi profunde; astfel de condiții sînt create și de *răcirea importantă a mucoasei*, *intoxicația* alcoolică, *anestezie*, de *existența bronșectaziilor*, a *edemului* pulmonar (care, paralizînd funcția macrofagelor locale, creează condiții de înmulțire a pneumococului în lichidul de edem).

Colonizarea inițială odată apărută, însămînțarea de noi alveole este favorizată de funcția pulmonului, inspir-expir; colonizarea unui întreg lob pulmonar determină infecția pneumococică cea mai caracteristică, *pneumonia francă lobară**. Pot fi invadați mai mulți lobi și bronșii, *bronhopneumonii*. 80—87% din pneumonii sînt date de pneumococ. Procesul parcurge toate etapele inflamației, de permeabilizare capilară cu acumulare de lichid de edem și PN incapabile să fagociteze pneumococi capsulați.

Prin contiguitate, pot fi invadate și zone de vecinătate, pleură, pericard, cu acumulare de lichid purulent în cavități, unde fagocitoza devine și mai puțin eficientă, dînd *pleurezii, pericardite*. În peste 30% din cazuri, pneumococii ajung pe cale limfatică prin canalul toracic în sînge, dînd *bacteriemii*; acestea generează localizări secundare în zone de minimă rezistență la infecție: *meningite, artrite, endocardite (v. S. viridans), peritonite* (mai ales la copii cu ascite prin nefroze).

Prin factori favorizanți similari, pneumococii pot iniția și infecții primare ale mucoaselor din vecinătatea TRS: *conjunctivite, irite, dacriocistite, sinuzite, otite medii, mastoidite*, la rîndul lor cu posibilități de extindere prin contiguitate (meningită) și de generalizare (bacteriemii).

Leziunile tisulare sînt cu atît mai importante cu cît tulpina infectantă produce capsule mai mari; pneumococul tip 3 determină inflamațiile cele mai puternice, ajungînd uneori la necroză cu formarea de abces pulmonar.

Imunitatea. Vindecarea pneumoniei cu *restitutio ad integrum*, după aproximativ o săptămînă de la debut, este rezultatul imunizării; coincide cu mobilizarea masivă a macrofagelor, mai eficiente decît PN și cu apariția Ig opsonizante care, reacționînd specific cu polizaharidul capsular, intensifică fagocitoza. Imunitatea este specifică de tip antigenic: același individ poate face infecții cu alte tipuri de pneumococi.

Diagnostic

Exceptînd pneumonia francă lobară, diagnosticul infecțiilor pneumococice este numai bacteriologic.

1) *Diagnosticul rapid, prezumtiv* în l. c. r., puroi din seroase, abcese, constă în punerea în evidență în frotiu de produs patologic, *a aspectului morfo-tinctorial caracteristic*, suficient pentru terapia de urgență, mai ales în meningite. Identificarea precisă și rapidă este posibilă prin test direct cu ser polivalent marcat cu fluorocrom.

2) *Izolarea pneumococului din produse patologice bacteriologic* pure (l. c. r., lichid pleural, pericardic, articular, peritoneal, abces cerebral etc.) este criteriul suficient de implicare ca agent etiologic. Izolarea se face prin însămînțări pe geloză-sînge cu identificare prezumtivă concomitentă prin testul la optochin și/sau prin inoculare i. p. la șoarece: șoarecii mor în maximum 24—48 ore cu prezența de diplococi capsulați caracteristici în splină și sînge (fig. 84, B).

---

* „S-a sugerat că adulții a căror țesuturi au devenit sensibilizate prin infecții anterioare cu pneumococi dezvoltă pneumonia lobară, în contrast cu copiii la care această situație este necunoscută" (Gell și Coombs, p. 406).

3) *Izolarea din spută* ține seama de faptul că pneumonii și bronhopneumonii pot fi date și de alte bacterii (stafilococi, bacili gram-negativ, dar mai ales de *Klebsiella pneumoniae*), și că, în 40—70% din cazuri, sputa, de orice etiologie, se contaminează în timpul expectorării cu pneumococii de pe mucoasă. De aceea, pentru implicarea pneumococului în etiologia procesului este obligatorie, fie aplicarea criteriilor cantitative de izolare și interpretare* (fig. 24, 78), fie recoltarea transtraheală a produsului.

Însămînțarea se face pe geloză-sînge cu identificarea concomitentă a pneumococului prin testul la optochin (aplicarea rondelei pe placa însămînțată cu produsul patologic : fig 94).

Deoarece implicarea pneumococului din spută pune uneori probleme de interpretare, se practică în paralel *hemoculturi*, care sînt pozitive în aprox. 30% din infecțiile bronhopneumonice și clarifică astfel etiologia acestora. Culturi din lichid pleural sînt de asemenea frecvent pozitive în pneumonie **.

Identificarea speciei se bazează pe morfologie și colorabilitate (capsulă), aspectul coloniilor pe geloză-sînge, testul la optochin, patogenitate experimentală (la șoarece), caractere biochimice și serologice (cu ser polivalent, specific de specie. *Identificarea tipului* se face serologic.

Sensibilitatea la antibiotice. Pneumococul este natural sensibil la peniciline și alte A. active asupra bacteriilor gram-pozitiv, la A. cu spectru larg și la sulfamide (tabel 19) ; rezistența dobîndită a fost pusă în evidență la tetracicline (10 — 20% din tulpini), la cloramfenicol (3 — 10% din tulpini) ; în anul 1977 a început semnalarea de tulpini rezistente la penicilină, întîi în Africa de Sud*** ; *A. Vâță, T. Turcu* și colab., la Iași, au pus în evidență pneumococi, izolați din meningite, rezistenți la 3,7 μg pen./ml.

Profilaxie. Deși morbiditatea generală este redusă, și sensibilitatea la A. mare, tendințe epidemigene ale pneumococului tip 3 sînt înregistrate în secții de spital — sugari, copii, bătrîni, insuficiențe cardiace, edem pulmonar și alți vulnerabili — postgripal, în colectivități închise militare, iar letalitatea în infecțiile pneumococice mai este de cel puțin 5%(USA). *Fourrier* și colab. (1977) raportează 48% decese din infecții pneumococice, din care 15 cu bacteriemii. Aplicarea profilactică de antibiotice la vulnerabili (gripe, edem pulmonar etc.) este inutilă și periculoasă, prin selectarea de stafilococi și bacili gram-negativ, mai periculoși. De aceea, vaccinarea antipneumococică față de tipurile care dau cea mai mare letalitate (tip 3, 7, 1, 5, 8, 14) și mai ales tipul 3 este considerată tot mai necesară ; vaccinul antipneumococic este deja utilizat în unele țări. Casa *Merck* prepară un vaccin din 14 tipuri de pneumococi care a fost generalizat în SUA ; el a determinat seroconversie la 92% din vaccinați și a redus pneumonia cu 76—99% ; copiii peste 2 ani vîrstă răspund foarte bine, iar cei sub doi ani, mai slab (*Hilleman* și colab., Bull. W. H. O., 1977, *56*, 3, 371-5).

---

* *Martin* (citat de *Fourrier* și colab.) acordă semnificație diagnostică valorilor de 10 bacterii per ml de spută în infecții pneumonice acute.

** Aceste culturi clarifică etiologia pneumoniei indiferent care este bacteria infectantă.

***La Johannesburg au fost evidențiate una sau mai multe tulpini multirezistente la antibiotice și cu rezistență înaltă la penicilină, la personal medical și la bolnavi (*Time*, 19 sept., p. 58, 1977).

BIBLIOGRAFIE

1. AGAPI C.: Sur la présence des streptocoques hémolitiques dans la gorge des scarlatineux. *C. R. Soc. Biol.*, *95*, 79, 1930.
2. AGAPI C.: Citat de *R. Lancefield* în: A serological differentiation of specific types of bovine hemolytic streptococci (group). *J. Exp. Med;*, *59*, 441, 1934.
3. AGAPI C.: *Teză*:, Iaşi. 1932.
4. AGAPI C.: Contributions à l'étude des streptocoques hémolitiques isolés dans la scarlatine. Présence de la substance spécifique M de Lancefield. *Arch. Roum. Path. Exper. Microbiol.*, *9*, 2, 351–363, 1936.
5. BAKER C., WEBB B. J., BARRETT F. F.: Antimicrobial susceptibility of group streptococci isolated from a variety of clinical sources. *Antimicrob. Ag. Chemoterap.*, *10*, 1, 128–131, 1976.
6. BALDOVIN-AGAPI C., FRANCHE M., BRANZAC V., PETRESCU A. M., BĂLAN S., PASOLESCU-PĂUNESCU O.: Tipurile de streptococ hemolitic în infecţiunea scarlatinoasă. *Analele Acad. R. P. R.*, II/32, 1–56, 1950.
7. BALDOVIN-AGAPI C., MIHALCO F. şi colab., Considérations sur les épidémies streptocociques d'origine alimentaire. *Arch. Roum. Path. Exp.*, *20*, 2, 191–199, 1961.
8. BASS J. M. et all.: Streptococcal pharingitis in children. *JAMA*, *253*, 11, 1976.
9. BERNESCU E., GHERASIM P., RADU C. în colaborare cu COSTEA V., CARNIOL M. COSTINESCU M., BODINAR M.: Streptococi betahemolitici de grup G şi infecţiile cutanate. *Rev. Med. Chir.*, 2, p. 229, 1976.
10. BESDINE R. W., PINO L.: Preparation and description of high-molecular weight soluble surface antigens from a group A *Streptococcus*. *J. Bacteriol.*, *96*, 1953–1960, 1968-
11. BUIUC D., DOBRESCU G., GHERASIM P., IONESCU L., DUCA E.: Consideraţii asupra proprietăţilor nefritogene şi reumatogene ale streptococului grup C tip *zooepidemicus*. Nota 111. *Rev. Med. Chir.*, 3, p. 407, 1976.
12. CALDER N. A., HARDY V. U., SCHNELL H. E.: Importance of pneumococcal typing in pneumonia. *Lancet*, 1, 5–6, 1970.
13. CIUCA M., MANOLIU E.: La valeur diagnostique des streptocoques hémolitiques dans les cas de scarlatine. *C. R. Soc. Biol.*, *93*, 1618, 1925.
14. DARDENUE M., ZABRISKIE J., BACH J. F.: Streptococcal sensitivity in chronic glomerulonephritis. *Lancet*, *1*, 7 742, p. 166, 1972.
15. DAVIDSON J. R., BLEVINS W. T., FLARY W.: Interspecies transformation of streptomycin resistance in oral streptococci. *Antimicrob. Ag. Chemother.*, *9*, 1, p. 145, 1976,
16. DIXON J. M. S.: *Pneumococcus* resistent to erythromycin and lincomycin. *Lancet*, *1*. 7 489, p. 573, 1967.
17. DUCA E., TOMESCO H., LAZAR M.: Hémoculture sur caillot de fibrine dans le diagnostic de l'endocardite infectieuse sous-aigue. *Giorn. Malatt. Inf. Parasit.*, *12*, 9–10, 642–644, 1960.
18. DUCA E., TEODOROVICI GR. şi colab.: A new nephritogenic streptococcus. *J. Hyg. Camb.*, 67, 691–698, 1969.
19. DUCA E., BUIUC D.: „1977, anul mondial al reumatismului", *Rev. Med. Chir.*, (Iaşi), *81*, 4, 695–696, 1977.
20. FEIGIN R. D.: The perinatal group B streptococcal problem: more questions than answer. *N. Engl. J. Med.*, *294*, 2, p. 106, 1976.

21. FINLAND M., BARNES M. V.: Changing etiology of bacterial endocarditis in the antibiotical era. *Ann. Int. Med.*, *72*, 3, 341—348, 1970.

22. FOURRIER A., MOUTON Y.-J. et all: Place actuèlle du pneumocoque en pathologie infectieuse. *Sem. Hop. Paris*, *53*, 4, 215—218, 1977.

23. FOX E. N., WITTNER M. K.: Antigenicity of the M proteins of group A hemolytic *Streptococci*. IV. Cross-reactivity between serotypes. *J. Immunol.*, *100*, 1, 39—45, 1968.

24. HELDRICH F.: Diplococcus pneumoniae. *Am. J. Dis. Child.*, *119*, 12—17, 1970.

25. HOOK E. W., ROBERTS R. B, SANDE M. A.: Antimicrobial therapy of experimental enterococcal infection. *Antimicrob. Ag. Chemother.*, *8*, 5, p. 564, 1975.

26. HUTTO J. H., AYOUB E. M.: Streptococcal osteomyelitis and arthritis in a neonate. *Am. J. Dis. Child.*, *12*, p. 1 449, 1975.

27. KLASSEN J. et all.: Evolution of membranous nephropathy intoglomerular-basement-membrane glomerulonephritis. *N. Engl. J. Med.*, 13 june, 1 340—1 344, 1974.

28. LINDEBERG L. H., VOSTI K. L.: Elution of glomerular bound antibodies in experimental streptococcal glomerulonephritis. *Science*, 166, 1 032—1 033, 1969.

29. Mc KAY, BALDWIN K. A., EFSTATHION J. D.: Transduction evidence for plasmid linkage of lactose metabolism in *Str. lactis* C_2. *Appl. Microbiol.*, *32*, 1, 45—88, 1976.

30. MIHALCU F., PLATICA C., şi colab.: Allergie streptococcique décélée par le test de transformation blastique. *Arch. Roum. Path. Exp. et Microbiol.*, *32*, 3, p. 412, 1973.

31. MILLIEZ P.: Glomérulonephrite streptococique: pathogenie immunologique. *Med. Hyg.*, *XXVIII*, 908, p. 335, 1970.

32. MHALU F. S.: Infection with *S. agalactiae* in a London hospital. *J. Clin. Path.*, *29*, 309—312, 1976.

33. MOATTI N., SUC CH., LANDREAUD F.: Isolement et identification rapide de *S. agalactiae* (group B de Lancefield). — Sa frequence dans les prélèvements humains. *Med. Malad. Infect.*, *4*, 10, 527—535, 1974.

34. MORTIMER E. A., VASTINE E. L.: Production of capsular polysaccharide (hyaluronic acid) by L colonies of group A streptococci. *J. Bacteriol.*, *94*, 1, 268—271, 1967.

35. MURRAY P. R., WOLD A. D., WASHINGTON J. A. II.: Recovery of group A and non group A β hemolytic streptococci from throat swab specimens. *Mayo Clin. Proc.*, *52*, 8 184, 1977.

36. PAREDES A., WONG P., YOW M. D.: Failure of penicillin to eradicate the carrier state of group B *Streptococcus* in infants. *J. Pediatrics*, *89*, 2, 191—193, 1976.

37. POOLE P. M., WILSON G.: Infection with minute-colony-forming-haemolytic streptococci. *J. Clin. Path.*, *29*, 740—745, 1976.

38. PONS M., PEREZ R., OLMER H.: Résistance *in vitro* des streptocoques D aux antibiotiques. *Path. Biol.*, *22*, 10, 851—858, 1974.

39. RANDOLPH M. F., REDYS J. J. et all: Streptococcal pharingitis. *Am. J. Dis. Child.*, 130, p. 171, 1976.

40. REID T. M.: Emergence of group B streptococci in obstetric and perinatal infections. *Brit. Med. J.*, 2, 533—536, 1975.

41. STRASSER T., ROTTA J.: The control of rheumatic heart disease: an outline of WHO activities. *WHO Chronicle*, *27*, 2, 9—14, 1973.

42. STRASSER T.: Le rhumatisme articulaire aigu et la cardiopathie rheumatismale dans les annés 1970. *Cronique OMS*, *32*, 20—28, 1978.

43. THOMPSON R. A.: Ig. G levels in patients with chronic membrano-proliferative glomerulo-nephritis. *Brit. Med. J.*, *1*, 5 795, p. 282, 1972.

44. TIMOSCA S., TIMOSCA G., COMAN G., VICOL C.: Considérations sur la bactériemie après les extractions. *Rev. Stomat. (Paris)* *77*, 6, 849—856, 1976.

45. VÂŢĂ A., TURCU T., MIHUL V., CUCIUREANU G., SCURTU C., BALTIEV A., RĂDULESCU AL.: Pericolul pneumococilor rezistenţi la penicilină. *Arch. Roum. Path. Exp. et Microbiol.*, 1978 (sub tipar).

46. WALKER S. H., SANTOS A. Q., QUINTERO B. A.: Recurrence of group B 111 streptococcal meningitis. *J. Pediatrics*, *89*, 189—190.

47. * * * Complement activation in glomerulo-nephritis. *N. Engl. J. Med. 296*, 22, p. 1299, 1977.

48. ZABRISKIE J. B., HSU K. C., SEEGAL B. C.: Heart-reactive antibody associated with rheumatic fever: characterization and diagnostic significance. *Clin. exp. Immunol.*, *7*, 147—159, 1970.

XXIII. FAMILIA NEISSERIACEAE

Familia **Neisseriaceae** este alcătuită din genurile *Neisseria* și *Branhamella*, care cuprind diplococii gram-negativ aerobi*, și genurile *Moraxella* și *Acinetobacter*, care includ cocii și cocobacilii gram-negativ care „mimează" diplococii, putînd fi confundați cu aceștia (tabel 45).

Tabelul 45

Caractere diferențiale ale genurilor și speciilor familiei ***Neisseriaceae***

	forme			creștere					acidifierea				
	diplococi	cocobacili-coci	capsulă	pe geloză-simplă	la 22°C	pigment galben-verde	testul oxidazei	producere de H_2S	glucozei	maltozei	sucrozei	sensibilitate naturală la peniciline G și V	reducerea nitratului
Neisseria gonorrhoeae	+		−	−	−	−	+	−	+	−	−	+	−
,, *meningitidis*	+		+	−	−	−	+	−	+²)	+²)	−	+	−
,, *sicca*	+		v	+	±	v	+	+	+	+	+	+	−
,, *subflava*¹)	+		+	+	±	+	+	+	+	+	v	+	−
,, *flavescens*	+		−	+	+	+	+	+	−	−	−	+	−
,, *mucosa*	+		+	+	−	−	+	+	+	+	+	+	−
Branhamella catarrhalis	+		+	+	+	−	+	−	−	−	−	+	+
Moraxella lacunata		+	±	−	−	−	+	−	−			+	+
,, *bovis*		+	±	−	−	−	+	−	−			+	−
,, *nonliquefaciens*		+	±	−	−	−	+	−	−			+	+
,, *phenylpyruvica*		+	±	−	−	−	+	−	−			+	+
,, *osloensis*		+	±	−	−	−	+	−	−			+	v
Acinetobacter calcoaceticus		+	+	+		−	−	−				−³)	−

¹) *N. subflava* include și fostele specii *N. flava* și *N. perflava*, considerate variante.
²) Variante negative posibile.
³) CMI ⩾ 5—10 μg/ml.

Toate speciile acestor genuri sînt aerobe, imobile, nesporulate; la unele s-au pus în evidență fimbrii și/sau capsule ori microcapsule; la majoritatea, a fost demonstrată prezența lipopolizaharidului de perete similar „endotoxinelor" bacililor gram-negativ (vezi cap. XX și cap. XXV).

---

* Diplococii gram-negativ anaerobi sînt încadrați în genul *Veillonella*, familia *Veillonellaceae* (cap. XXIX).

Ca habitat, majoritatea sînt comensali ai mucoasei TRS, cu excepția speciilor *Neisseria gonorrhoeae*, parazit al mucoasei genitale, și *Acinetobacter calcoaceticus*, saprofit al mediului extern care contaminează mucoasele.

Familia cuprinde două specii înalt patogene numai pentru om, *N. gonorrhoeae* și *N. meningitidis*, restul comportîndu-se ca accidental patogeni menționați rareori în meningite și/sau endocardite bacteriene subacute, sau ca bacterii de asociere în unele procese supurative.

Toate speciile sînt sensibile la majoritatea antibioticelor cu spectru larg; cu excepția speciei *Acinetobacter calcoaceticus*, sînt sensibile și la penicilinele de biosinteză.

A. GENUL NEISSERIA

Neisseria include speciile înalt patogene, *N. gonorrhoeae*, care este și specia tip a genului, și *N. meningitidis*, ca și un număr de specii accidental patogene, denumite „nepretențioase" sau „modeste", deoarece, spre deosebire de gonococ și meningococ, cultivă și pe medii simple, la temp. de 22°C.

Morfologic, speciile *Neisseria* nu pot fi diferențiate între ele; sînt coci cu formă de boabă de cafea așezați cîte doi privindu-se prin fețele plane alcătuind diplococi și, mai rar, tetrade (datorită diviziunii în două planuri), ceea ce îi diferențiază de *Moraxella* și *Acinetobacter* (care se divid într-un singur plan) și apar cîte doi sau ca scurte lanțuri.

Speciile *Neisseria* „nepretențioase" trebuie cunoscute pentru că, avînd aceeași formă și fiind prezente constant pe mucoasa rinofaringiană pot fi confundate cu meningococul; prezente uneori pe mucoasa vaginală și uretrală, pot fi confundate cu gonococul. În plus, au antigene* comune cu *N. meningitidis* și *N. gonorrhoeae*, ceea ce explică numărul mare de reacții serologice fals pozitive în anchete serologice față de gonococ:

N. sicca, numit astfel deoarece multe tulpini sînt *rough*-izate, dînd pe geloză-sînge colonii uscate (*siccus* =uscat), friabile, cenușii, care aglutinează spontan în ser fiziologic; tulpini capsulate dau colonii mucoase, albe sau gălbui; rareori a fost menționat ca asociat în infecții bronhopulmonare;

N. subflava, specie capsulată, dă colonii gălbui; rareori izolat din meningite;

N. flavescens, necapsulat, dă colonii galben-aurii; rareori a fost izolat din meningite și bacteriemii;

N. mucosa, specie capsulată (capsulă individuală sau materie capsulară care înglobează mai mulți coci), formează cel mai adesea colonii nepigmentare; nu crește la 22°C; întîlnit uneori în meningite, sau ca bacterie de asociere în infecții bronhopulmonare**.

Sensibilitate la antibiotice. Toate speciile *Neisseria* sînt *natural sensibile* la:

— sulfamide, cotrimoxazol sau bactrin (sulfametoxazol + trimetoprim);

— peniciline de biosinteză G și V, macrolide (eritromicină, spiromicină, oleandomicină), pristinamicină, fucidin, peniciline de semisinteză rezistente la penicilinază (meticilină, cloxacilină);

— antibiotice cu spectru larg (ampicilină și amoxicilină, cefalosporine, novobiocină, tetracicline, streptomicină și spectinomicină, kana- / neo- / gentamicină, cloramfenicol și thiamfenicol, rifadin).

---

* Este demonstrat că CIC din *lamina propria*, de sub epiteliu, răspund prin formare de Ac la multe Ag microbiene și macromoleculare prezente pe mucoasă.

** *N. mucosa* este foarte sensibilă la cloramfenicol.

Speciile *Neisseria* sînt *relativ rezistente* la A. polipeptidice (polimixine B şi E, bacitracină, gramicidin), la ristocetin, vancomicin, lincomicin şi chlindamicin; (speciile ,,nepretenţioase'' sînt sensibile şi la polimixine).

Toate sînt *supuse fenomenelor de dobîndire a rezistenţei progresive* la A, pînă la rezistenţă totală; apar astfel mari variaţii de sensibilitate de la tulpină la tulpină în sînul fiecărei specii; la gonococ s-a pus în evidenţă rezistenţa la penicilină prin fR — plasmidic, codificînd producere de penicilinază (cap. X).

Patogenitate. Cocii gram-negativ sînt bacterii *virulente piogene*, cu virulenţă variabilă, *sensibilizante*, netoxigene.

1. NEISSERIA GONORRHOEAE SAU GONOCOCUL

> ,,În ciuda faptului că tratamentul individual dă rezultate excelente, în perioada 1957—1971, în unele ţări din Europa, numărul cazurilor de blenoragie declarate a crescut de 90 pînă la 500%'' (*L'ignorance et l'indifference*; *Features* — OMS — 13/1973). Cauza acestui nonsens este insuficienta educaţie sanitară a tineretului; la aceasta se adaugă, în prezent, ameninţarea răspîndirii tulpinilor rezistente la penicilină, deja apărute în multe puncte pe glob.

N. gonorrhoeae, patogenă numai pentru om, este agentul gonoreei*, cea mai frecventă din maladiile transmise sexual (MTS)** (fig. 86).

Gonococul a fost văzut prima dată de *Albert Neisser* (1879) în celule de puroi din uretrita blenoragică a adultului şi oftalmia *neonatorum*; cultivat de *Leistikov* şi *Loeffler* în 1882. *Bumm* (1885) i-a demonstrat patogenitatea prin inoculare la voluntari.

a. MORFOLOGIE SI COLORABILITATE

Coci gram-negativ, în boabă de cafea, aşezaţi cîte doi privindu-se prin feţele plan-concave; 0,6/0,8 μm ∅; în culturi apar şi izolaţi, sau în tetrade; capsula nu este vizibilă în coloraţia Gram, dar este vizibilă în imunofluorescenţă; posedă pili.

În frotiu din infecţii cronice şi în culturi îmbătrînite se văd frecvente forme de involuţie (coci inegal calibraţi, uneori giganţi, sferici, neomogen coloraţi) datorate fenomenelor de autoliză.

---

* Considerată cîndva ,,scurgere de spermă'', de unde şi numele de gono — ree.

** MTS, prescurtare propusă de Comitetul de experţi OMS pentru a înlocui termenul şocant de boli venerice.

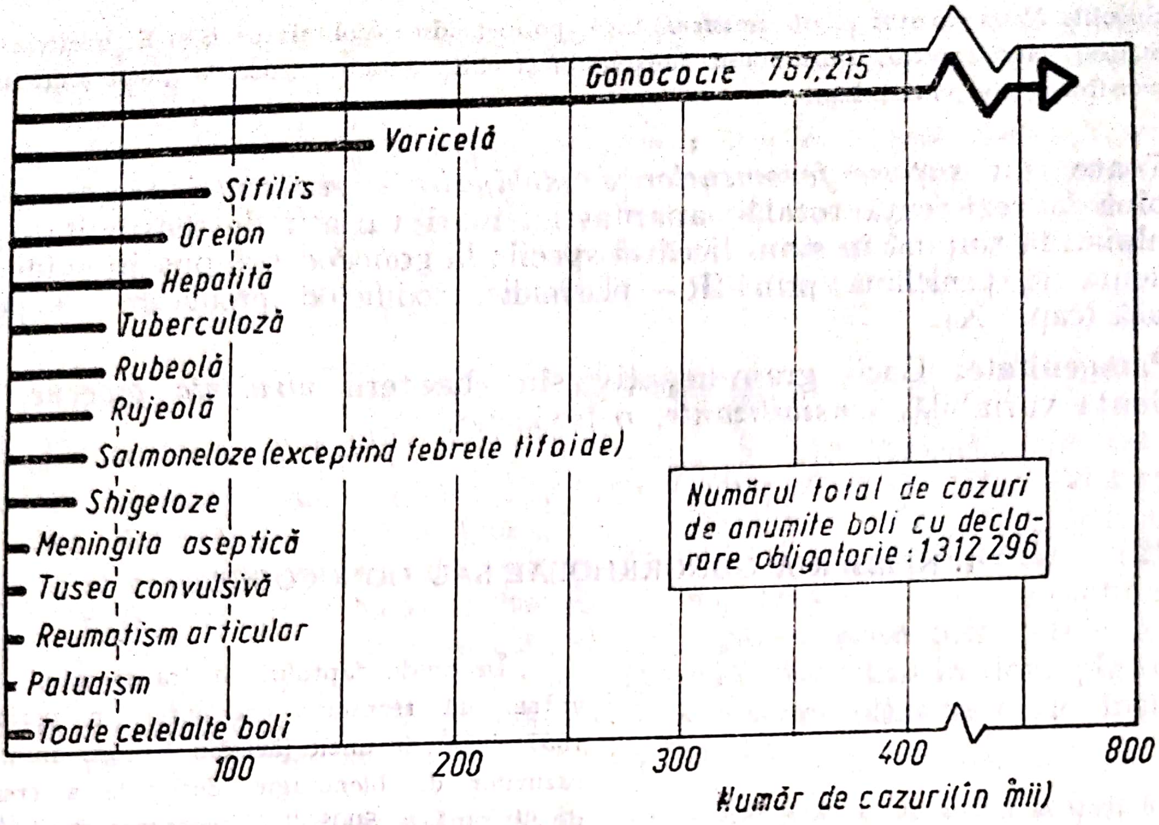


Fig. 86: Locul MTS printre principalele boli transmisibile în SUA, 1972 (OMS).

b. *STRUCTURĂ ANTIGENICĂ ŞI FACTORI DE PATOGENITATE*

Antigene de specificitate. *Polizaharidul K*. Datele de pînă acum demonstrează că specia *N. gonorrhoeae* este caracterizată antigenic de prezenţa unui hapten polizaharidic de tip capsular (K), cu specificitate de specie, foarte labil la acţiunea unei enzime autolitice, ceea ce dă o falsă impresie de heterogenitate antigenică.

Datorită studiilor cu AF* (iniţiate de *Deacon*, 1961) s-a recunoscut că polizaharidul este o structură superficială de perete, similară polizaharidelor capsulare ale meningococilor (mai ales meningococ grup B cu care dă reacţii serologice încrucişate). Este prezent numai la gonococi virulenţi, izolaţi din infecţii acute, în culturi tinere (4—30 ore); datorită fenomenului de autoliză, polizaharidul K începe să dispară încă după primele 4 ore de cultivare, întîi de pe feţele externe; după 72 ore mai persistă pe interfeţe, pentru a dispărea complet în culturi vechi; aceeaşi degradare treptată are loc şi în organism, odată cu cronicizarea infecţiei (fig. 87)

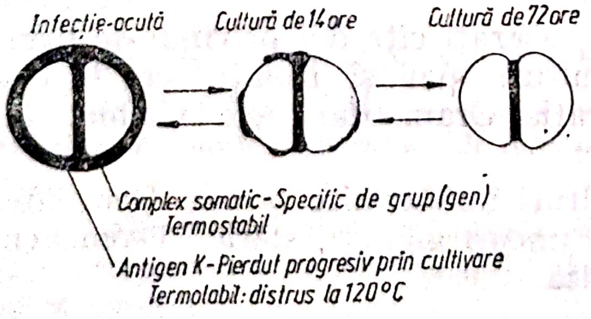

Infecţie-acută
Cultură de 14 ore
Cultură de 72 ore
Complex somatic-Specific de grup (gen)
Termostabil
Antigen K-Pierdut progresiv prin cultivare
Termolabil: distrus la 120°C

Fig. 87: Reprezentare schematică a antigenului K la *N. gonorrhoeae* (*Deacon*, 1961).

Polizaharidul K rezistă la formol şi încălzire la 100°C, este distrus la 120° (aspecte importante pentru scopuri imunologice). Legat de corpul bacterian, permite prepararea pe iepure a serului imun care (adsorbit cu suspensie de *N. meningitidis*) reprezintă serul cu specificitate de specie. Marcat cu ITCF*, acest ser permite cel mai specific și rapid test de depistare a gonococilor în frotiuri din infecții cronice și a coloniilor în culturi tinere.

---

* AF = anticorpi fluorescenţi.

Cultivarea gonococului în embrionul de găină pare să prevină degradarea rapidă a polizaharidului K creînd posibilitatea obținerii unui Ag specific pentru serodiagnostic.

Antigene de serogrup. După *Apicella* (1976), specia *N. gonorrhocae* ar avea cel puțin 4 serogrupe, pe baza structurii diferite a unor polizaharide de suprafață ce pot fi obținute prin hidroliză alcalină (fără relație cu forma coloniei, deci cu polizaharidul K).

Proteina piliară a demonstrat o mare diversitate antigenică la tulpinile studiate, împărțind specia în serotipuri încă insuficient studiate.

Factori de patogenitate. Gonococul este o bacterie virulentă și sensibilizantă, netoxigenă.

Virulența este asigurată de polizaharidul tip capsular K, de proteina piliară și, probabil, de o enzimă de clivare a IgA_1:

polizaharidul K funcționează ca important factor antifagocitar; este demonstrat că gonococii virulenți, deși înglobați de PN, rezistă digestiei, supraviețuiesc și se înmulțesc în citoplasmă burînd unele PN (fig. 88); pierderea progresivă a polizaharidului se însoțește de: (i) variația S-R** a coloniilor cu creșterea autoglutinabilității și de (ii) pierderea treptată a virulenței demonstrată pe voluntari (infecție posibilă numai prin inoculare de exsudat proaspăt din uretrită acută sau culturi foarte tinere, tip S);

proteina fimbrială. S-a stabilit că pilii sînt prezenți numai la gonococi virulenți și funcționează ca factori de aderență strict specifică la epiteliul cilindric al tractusului urogenital uman, împiedicînd spălarea și eliminarea gonococului prin fluxul urinar; variația lor antigenică ar putea explica infecțiile repetate la același individ;

enzime cu rol probabil în virulență: după *Plaut* și *Gilbert* (1975), gonococul ca și meningococul, bacterii care în stadiul inițial colonizează mucoase, eliberează o *enzimă proteolitică, capabilă să cliveze anticorpul principal în apărarea mucoaselor, IgA_1, în fragmentele Fc și Fab*, ceea ce ar explica de asemenea, într-o măsură infecțiile gonococice repetate.

Pe baza factorilor de virulență corpusculari, proteina piliară și carbohidratul K, se speră în obținerea unor antigene utilizabile în serodiagnosticul infecțiilor subclinice (foarte periculoase în răspîndirea bolii) și în obținerea „mult visatului" vaccin antigonococic.

Factorul sensibilizant este tot mai adesea identificat cu un lipopolizaharid similar „endotoxinelor" bacililor gram-negativ; un rol important în eliberarea lui l-ar avea enzima autolitică a gonococului.

Enzima autolitică degradează peretele și în special antigenul K ceeace ar explica eliberarea rapidă a „endotoxinei"; (este inactivată în 30 min. la 65°C, prin adaos de formalină, sau cianură de K, agenţi folosiţi pentru întreruperea autolizei şi stabilizarea suspensiilor necesare pentru testele serologice).

---

* ITCF = Izotiocianat de fluoresceină.

** În cadrul acestei variații au fost descrise 4 tipuri de colonii:
T_1 (colonii S cu gonococi virulenți, cu polizaharid K în cea mai mare cantitate), T_2 (proprietăți intermediare), T_3 și T_4 (colonii R cu gonococi lipsiți de polizaharid K și avirulenți).

Numeroase date permit deducţia că gonococul, ca şi meningococul, are un lipopolizaharid de perete, de care depinde starea de sensibilizare de tip celular ce întreţine infecţia cronică. În adevăr, i. d. r. practicate cu extracte de gonococ (,,gonotoxina") la aceşti bolnavi pun în evidenţă reacţii pozitive de tip întîrziat. Experimental, atît suspensii de gonococi vii, virulenţi, cît şi nevirulenţi, ca şi suspensii omorîte, sau lizate de gonococi, injectate i. v. sau i. p. la animale de laborator, induc fenomene patologice similare celor descrise pentru ,,endotoxine", inclusiv moarte (cap. XX).

Cohen (1967) a demonstrat că serurile multor indivizi care nu au suferit infecţii gonococice dau reacţii pozitive cu astfel de Ag somatice, ceea ce ar demonstra asemănarea antigenică cu alte ,,endotoxine" şi ubicvitatea acestora (tabel 46).

Tabelul 46

N. gonorrhoeae, **antigene (Ag) de specificitate şi factori (f) de patogenitate**

- Ag cu specificitate
  - de gen: nucleoproteine şi proteine profunde de perete;
  - de specie: polizaharidul ,,K" (hapten tip capsular, foarte labil; fig. 87);
  - de tip
    - proteine piliare
    - polizaharide

    } insuficient studiate
  - Ag ubiquitar: LPS de perete, similar ,,endotoxinelor".
- Factori de patogenitate
  - f. de aderenţă şi colonizare pe mucoasă: pilii;
  - f. de invadare a mucoasei, antifagocitari
    - pilii,
    - polizaharid K;
  - f. de favorizare a reinfecţiei: enzima de clivare a IgA_1;
  - f. de cronicizare inflamatorie: LPS eliberat prin autoliză.

c. *CULTIVARE*

Spre deosebire de speciile *Neisseria* ,,nepretenţioase" şi de *Branhamella* (de care trebuie diferenţiat), gonococul, ca şi meningococii, cresc numai pe medii complexe îmbogăţite cu produse native animale (globule roşii, ser, plasmă), cu autolizat de drojdie de bere, glucoză, (creşterea fiind favorizată de un conţinut redus de ClNa, de prezenţa Ca^{++}, Mg^{++}, şi pH 7,2—7,6); necesităţile nutritive variază uneori de la tulpină la tulpină.

Ca şi meningococii, gonococii sînt inhibaţi în creştere de urme de săruri de metale şi de acizii graşi nesaturaţi aduşi în mediu de agar, de peptone şi de vata folosită pentru tamponul cu care se face recoltarea secreţiei*. De aceea, unii cercetători recomandă medii pe bază de ou, iar multe din ingredientele celor mai recomandate medii (geloza-chocolat**, *Mueller Hinton*, *Peizzer-Steffen* şi mai ales *Thayer-Martin*), ca amidon, pudră de hemoglobină, colesterol, cărbune, sînge total etc., funcţionează ca adsorbanţi ai produselor toxice.

---

* Motiv pentru care tamponul de vată este tot mai mult înlocuit cu tamponul din alginat de calciu.

** Geloză cu 10% sînge de cal, încălzit 5—10 min. la 80°—90°C.

Vitalitatea în medii de transport *(Stuart)* și de întreținere, ca și creșterea, sînt favorizate de *umezeală* (de aceea, la medii se include un minimum de agar pentru a le menține doar solidificate, 1—1,5 g%), gonococul crește cel mai bine (în 18—48 ore) în incubare aerobă în borcan cu lumînare (prezența CO_2 în proporție de 5—10% fiind indispensabilă mai ales la izolarea din organism); temp. optimă 35—36°C.

Aspectul coloniilor depinde de gradul de variație S-R, de calitatea mediului și densitatea coloniilor: coloniile S sînt prezente în culturi tinere (18—30 ore) proaspăt izolate din infecție acută (au 0,5—2 mm ∅, sînt rotunde, convexe, netede, aproape transparente, practic nepigmentate, strălucitoare); coloniile R sînt prezente în culturi izolate din infecții cronice, în orice cultură după 48—72 ore și în subculturi (sînt mai mari, 2—5 mm ∅, turtite, rugoase, cu contur lobat, cenușii, vîscoase, și conțin bacterii autoaglutinabile în SF); se întîlnesc și colonii cu aspecte intermediare.

Gonococul în variantă S tulbură discret *mediile lichide* cu formare de pelicule foarte fine în 24—48 ore; tulpinele R formează sediment.

La *mediile de izolare* se adaugă antibiotice care inactivează flora gram-pozitivă și negativă și fungii normal prezenți pe mucoase.

d. *CARACTERE BIOCHIMICE*

Ca toate speciile *Neisseria*, gonococul produce catalază și indofenoloxidaza care, pusă în evidență prin testul oxidazei, permite decelarea coloniilor de gonococ în culturile mixte* (ținîndu-se seama de faptul că pozitivează testul mult mai repede decît speciile „nepretențioase"); acidifică glucoza fără producere de gaz, nu produce indol, nu transformă nitrații în nitriți, nu este hemolitic (tabel 45).

e. *VITALITATE*

Vitalitatea gonococului ca și a meningococului este foarte redusă.

Pe medii de cultură la 37°C mor în 6—8 zile, iar la temp. camerii în 2—3 zile.

Acoperirea culturii cu parafină neutră și menținerea la 35°C le prelungește viabilitatea; tulpini de laborator pot fi întreținute prin pasaje la 1—2 zile. Culturile de referință sînt congelate brusc la — 70°C, cu gheață carbonică și păstrate în congelator; cea mai bună metodă de conservare este însă liofilizarea.

Mor în 1—2 ore la uscăciune (de aceea, metoda de izolare prevede însămînțarea extemporanee); mor instantaneu la UV, în aproximativ 30 min. la 55°C căldură umedă, în 1—2 ore la 41,5—42°C (ceea ce a determinat utilizarea piretoterapiei, anterior descoperirii antibioticelor).

---

* Bacili gram-negativ (piocianic, enterobacterii), difteroizii, și unele levuri produc de asemenea indofenoloxidaza.

Sînt sensibili la toate antisepticele, inclusiv cele mai ușoare, ca sărurile de argint (*in vitro*, mor în NO_3Ag 1/4000 în 2 min.) utilizate în profilaxie.

f. INFECȚIA GONOCOCICĂ

Habitat. Gonococul este o bacterie strict parazită, omul infectat este singura gazdă naturală; (spre deosebire de meningococul cu care seamănă foarte mult și care se înmulțește pe mucoasa TRS, gonococul are un deosebit tropism pentru mucoasa genito-urinară, datorat probabil unui ansamblu de condiții favorabile și specificității de aderență a pililor la epiteliul cilindric și intermediar al uretrei, canalelor Bartholin, endocol, trompe).

Contaminarea este cel mai adesea veneriană, cele mai frecvente infecții gonococice fiind *uretrita anterioară la bărbat* și *cervicita la femeie*; anorectite, tonsilite-faringite prin contaminare oro-genitală sînt citate. Contaminarea, odată cu trecerea prin filiera genitală infectată, generează *oftalmia nou-născutului*. Mîinile și obiectele de lenjerie recent contaminate duc la *conjunctivita gonococică a adultului, vulvovaginita tinerelor fetițe.*

Colonizare. Gonococii pot coloniza epitelii cilindrice și de tranziție: uretra, cervix uterin, canal anal, faringe, conjunctivă, trompe.

Incubația este de 1—14 zile, în raport de rezistența noii gazde, virulența tulpinii (provenită din uretrită acută sau cronică) și intensitatea contaminării: pe aceeași unitate de volum (10 ml tampon fosfat de spălare cervico-vaginală) numărul de colonii poate varia de la 4×10^1 la 10^7.

Infecția. Gonococii virulenți rezistă la fagocitoză și invadează țesutul, pătrunzînd printre și în celulele cilindrice și înmulțindu-se subepitelial; prezența lor determină aflux de PN (inflamația), care migrînd în lumenul uretrei constituie secreția purulentă. Importanța răspunsului inflamator caracterizează evoluția, inaparentă sau aparentă:

infecția gonococică inaparentă, cunoscută de mult la femeie, la care reprezintă 80—90% din gonococii (la persoane niciodată suspectate*), a fost demonstrată și la bărbat (5—10%); ea reprezintă cea mai periculoasă sursă de contaminare și de infecții secundare, deoarece nu poate fi identificată decît prin gonoculturi, sau prin examene clinice repetate cu examen citobacteriologic pe probe recoltate din endocol;

infecția clinică debutează acut sau hiperacut la bărbat și subacut la femeie și este caracterizată de inflamație, supurație, durere.

Infecțiile inițiale, atît cele aparente cît și cele inaparente, netratate, tratate tîrziu sau incorect tratate, se extind dînd supărătoare *complicații de vecinătate,* uneori *bacteriemii* și *localizări secundare.*

Bacteriemiile sînt azi rare, datorită antibioticelor; gonococii pot pătrunde prin rupturi vasculare; de aceea, sînt mai frecvente la femeie în timpul menstrelor și la parturientă.

Localizările la distanță sînt postbacteriemice sau prin mobilizare de PN burate cu gonococi; ele au loc pe seroase dînd „artrita gonococică a genunchiului"**, pleurezii, peritonite, dau endocardite, în derm (dermatite maculopapuloase); la sugar dau și meningite.

---

* Un examen ginecologic atent poate pune în evidență o inflamație discretă a colului.

** După Cruickshank, artrita poate fi și o manifestare alergică.

Infecțiile, atît cele la poarta de intrare, cît și cele secundare, netratate în faza acută, se pot *croniciza* prin inflamații de tip întîrziat monocitar, care duc la fibrozări; infecția cronică este rară la bărbat, dar este aproape o regulă la femeie, ca anexită, pentru că etapa inițială trece cel mai adesea neobservată și netratată.

Reinfecții, repetate, sînt posibile și pot apărea și la o săptămînă de la o infecție bine tratată (se citează 15—20 uretrite); sînt adesea confundate cu eșecuri terapeutice. Experimental, la voluntari, uretrita acută a putut fi obținută și în timpul unei infecții cronice. Posibilitatea reinfecțiilor, în ciuda faptului că gonococul este o bacterie imunizantă, se explică prin: (i) lipsa unei bune imunizări, consecință a tratamentului cel mai adesea prompt și corect care asigură rapida sterilizare bacteriologică, în 24 ore; (ii) prin ineficiența IgA, anticorpul prezent pe mucoase, pe care proteaza gonococului îl poate distruge parțial, permițînd colonizarea, și (iii) prin existența mai multor tipuri antigenice ale factorului piliar de colonizare.

Imunitatea antigonococică: anticorpii apar, în medie, la 10 zile de la debutul primei infecții, putînd fi puși în evidență prin orice reacție serologică, în special R. F. C.*. Eficiența lor la poarta de intrare este redusă (după cum s-a văzut); totuși, experiențe pe voluntari demonstrează rezistența mult mai mare la infecție a celor care posedă Ac, comparativ cu cei fără Ac antigonococici. Prezența Ac limitează însă generalizările și, astfel, localizările la distanță. (Astfel de date încurajează experiențele pentru obținerea vaccinului antigonococic).

Gonoreea la bărbat începe cu inflamaţia uretrei anterioare şi a glandelor uretrale (cu secreţie mucoid-gălbuie care devine purulentă). Netratată, se extinde în 1—2 săptămîni la uretra posterioară, complicîndu-se cu *epididimită (cea mai frecventă complicaţie la bărbat,* 30%) orhită, prostatită. Astuparea conductelor glandulare permite formare de abcese care distrug glandele — sterilitate. Prostatita cronică şi fibrozările care dau stricturi uretrale favorizează infecţii repetate ale tractusului urinar cu bacterii condiţionat patogene, mai ales *E. coli*.

Cervicita gonococică începe cu o inflamaţie a orificiului uterin; deseori, concomitent, evoluează şi o rectită de vecinătate; 80—90% evoluează complet inaparent, sau cu o mică „scurgere cronică" mascată de supraînmulţirea pe acest fond a florei mixte din vagin. Se extinde prin endocol, în endometru (mai rezistent la infecţia gonococică) şi ajuns în trompe dă salpingita *(cea mai frecventă complicaţie la femeie)* ce se complică uneori cu pelviperitonită, ovarite superficiale care pot dura 10—15 ani; obliterarea trompelor duce la sterilitate, formare de abcese. Uneori, concomitent cu cervicita, evoluează şi o uretrită şi inflamaţie a meatului glandelor Bartholin şi Skene.

Se citează rare cistite, pielonefrite şi chiar abces renal.

Oftalmia gonococică a nou-născutului debutează ca o conjunctivită cu inflamaţie şi supuraţie impresionantă; netratată duce la oftalmii care dau aproximativ 10% din orbiri. În unele arii de pe glob în care nu se foloseşte profilaxia antigonococică la nou-născut, gonococul generează meningite.

Vulvovaginita fetiţelor este rareori (2—3%) de etiologie gonococică (nu există la adultă).

Conjunctivita adultului, contaminare prin mîini murdare.

Infecţia experimentală a fost obţinută prin inoculare la embrion de găină, în camera anterioară a ochiului la iepure şi prin inoculare i. p. de gonococi înglobaţi în mucină (capsulă artificială) la şoareci, dînd boală mortală.

---

* Reacţie de fixare a complementului.

Epidemiologie : gonoreea este printre cele mai răspîndite infecţii (fig. 86) ; 50—80% din cazuri apar la tineret, frecvenţă ce îşi are originea în lipsa de educaţie sanitară şi promiscuitate sexuală consecutivă (vezi moto).

g. *DIAGNOSTICUL DE LABORATOR*

Diagnosticul etiologic de gonococie este bacteriologic. Serodiagnosticul nu este pus la punct (lipseşte o bună metodă de obţinere a antigenului specific de specie şi există dificultăţi de interpretare a reacţiilor pozitive din cauza reinfecţiilor care fac dificilă diferenţierea între Ac prin infecţie actuală şi Ac anamnestici, iar înrudirile antigenice cu meningococul şi celelalte neisserii comensale, duc la false reacţii pozitive).

Recoltarea secreţiilor se face la cel puţin două ore de la toaleta intimă şi micţiune (care spală uretra), înainte de orice terapie generală sau locală :

— la bărbat, recoltarea puroiului uretral se face cu ansa sau cu tamponul* îndepărtînd prima picătură ; în lipsa secreţiei, ansa (sau un tampon de vată foarte subţire şi umezit cu SF sau apă caldă) se introduce în uretră cam 2—5 cm ;

— la femeie recoltarea se face numai pe masa ginecologică, cu tamponul*, din endocol (pus în evidenţă cu *speculum* steril umezit cu apă caldă, *fără lubrefiant*) şi concomitent din uretră.

Recoltarea cu tampon vaginal autoinserat (numai pentru culturi) este o metodă comodă (discretă) şi impusă de frecvenţa infecţiei inaparente, decelabilă numai prin gonoculturi repetate ; ar da rezultatele similare culturilor endocervicale : (se foloseşte tampon de vată vaginal cu şnur, steril, autoinserat profund ; este extras după 30 min. folosind şnurul, pus într-o cutie sau plastic steril, transportat şi însămînţat imediat).

Dacă există o inflamaţie, se recoltează şi din meatul urinar, orificiile glandelor Bartholin (cu ansa), anus. În vulvo-vaginita fetiţelor se recoltează cu tampon din vagin, folosind *speculum* auricular.

(*i*). *Examenul citobacteriologic* în frotiu, colorat Gram sau cu albastru de metilen, permite diagnosticul gonocociilor acute : uretrita la bărbat şi conjunctivita. Recoltat pe masa ginecologică, frotiul permite diagnostic la aproximativ 2/3 din infecţiile la femeie. Pe frotiu predomină PN, unele conţinînd în citoplasmă un număr mare de diplococi şi rar diplococi extracelular (fig. 88). Acest aspect este patognomonic pentru diferenţierea gonoreei acute, la

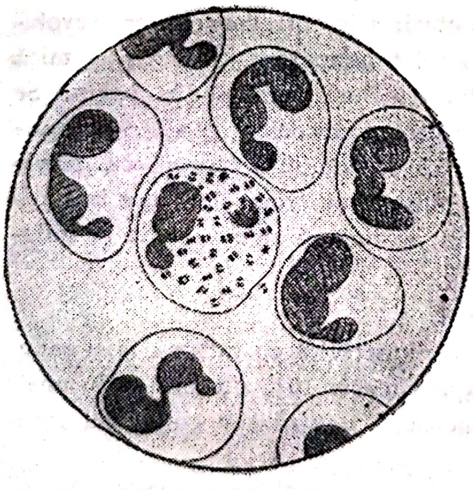


Fig. 88 : N. gonorrhoeae : frotiu din infecţie acută (uretrită acută la bărbat).

---

* Tampon de vată tip faringian ; pentru gonocultură se recomandă tamponul cel mai puţin toxic, din alginat de calciu, care este şi cel mai puţin traumantizant pentru endocol şi uretră.

bărbat, de uretritele negonococice*. (Este singura metodă rapidă și ieftină de diagnostic, pe baza căreia este posibilă începerea unei terapii precoce, asigurînd o bună vindecare și reducînd astfel perioada de contagiozitate; tratarea concomitentă a partenerului sexual este cea mai ieftină și eficientă metodă de profilaxie).

În infecția cronică, examenul citobacteriologic nu este caracteristic: apar macrofage și celule epiteliale, PN sînt rare și lipsesc celulele burate, flora poate fi mixtă și gonococii sînt aproape numai extracelulari cu forme aberante care pot fi confundate cu alte bacterii; în această etapă prezența unui număr mai mare de diplococi gram-negativ permite doar diagnostic prezumtiv; o posibilitate de identificare a gonococilor în frotiu, în acest stadiu, este prin AF (fig. 89). Un examen negativ nu exclude infecția gonococică.

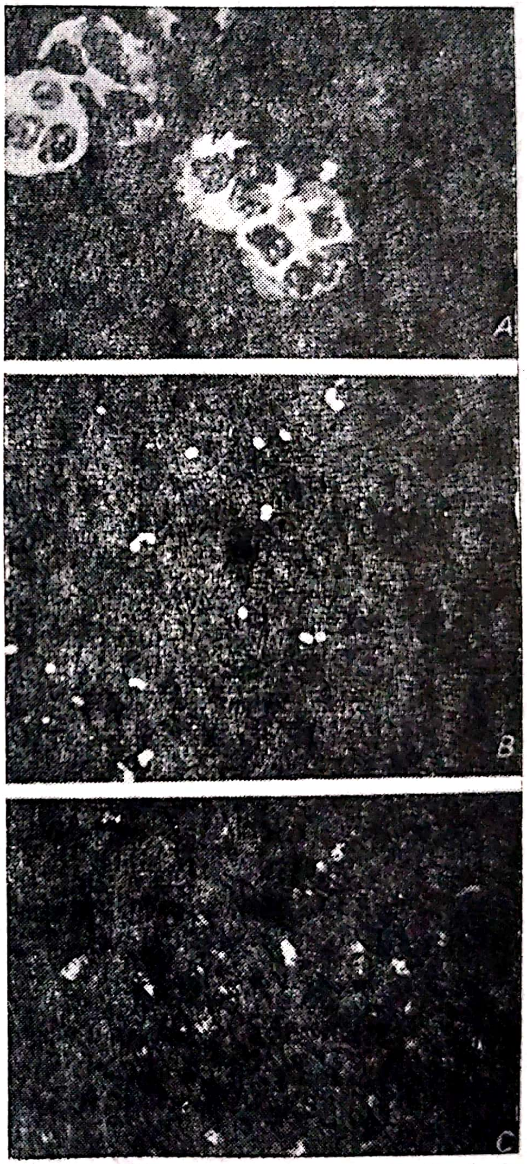


Fig. 89: *N. gonorrhoeae*, în frotiuri de produs patologic (A) și culturi (B, C), tratate cu AF (reprodus).

(ii). *Gonocultura* permite diagnosticul infecțiilor asimptomatice la femeie și la bărbat, a infecțiilor cronice în general, în bacteriemii, artrite, meningite; permite determinarea sensibilității gonococilor la antibiotice; gonocultura este obligatorie la gravide.

Însămînțarea se face extemporaneu; (este posibilă folosirea mediilor de transport, dar procentul de izolări este mai redus și metoda costisitoare). Pentru izolarea din produsele normal contaminate se folosesc mediile speciale pentru gonococ**, la care se adaugă antibiotice selective: inhibitori pentru *bacterii gram-pozitiv* (vancomicin —3 µg/ml mediu, lincomicin — 1,5 µg/ml, sau ristocetin — — 10 µg/ml), pentru *bacili gram-negativ* (colistin —7,5 µg/ml, sau polimixină B — 25 U/ml) și pentru *fungi* (nistatin — 12,5 U/ml)***.

Plăcile se incubează imediat în borcan cu lumînare (care nu fumegă), la 35°–36°C și se examinează după 24, 48 și 72 ore.

---

* Uretrite negonococice infecţioase (cu incluzii, prin specii *Chlamydia*, sau şi *Trichomonas)* şi neinfecţioase: alergice sau mecanice (mucus + celule epit. şi floră mixtă rară, lipsesc PN). Uretritele mecanice sînt întreţinute de microtraumatismele zilnice; interdicţia autoexaminării duce la vindecare în 15—20 zile.

** Inst. Cantacuzino şi Centrul de Dermato-Venerologie Bucureşti au pus la punct astfel de medii pentru izolarea gonococului.

*** *Lennette*, 1974, propune suplimentarea cu 5 µg-ml trimetoprim pentru a inhiba creşterea speciilor *Proteus* şi *Pseudomonas*.

Identificarea prezumtivă a coloniilor de gonococ constă în rezistența la A. incluse, aspect, frotiu colorat Gram, testul oxidazei, testul direct cu AF (fig. 89 B). Coloniile suspecte sînt trecute pe plăci cu mediu neselectiv pentru purificare și identificare prin acidifierea glucozei, fără modificarea maltozei și sucrozei.

Antibiograma. Se recomandă ca în fiecare centru (țară, județ) să se cunoască *pattern*-ul de sensibilitate reală la A. a tulpinilor circulante și mai ales CMI de penicilină; determinate periodic pe un număr de tulpini statistic valabil (ceea ce ar economisi multe eșecuri terapeutice și A. mai scumpe). Repetate publicații OMS (1976—1979) recomandă supravegherea eventualei apariții a tulpinilor producătoare de penicilinază pe: „tulpini izolate după 7—14 zile de la aplicarea unei terapii cu doze standard de penicilină de la bolnav la care secreția persistă".

h. *SENSIBILITATEA GONOCOCULUI LA ANTIBIOTICE, CRITERII TERAPEUTICE*

N. gonorrhoeae are același spectru de sensibilitate și rezistență naturală la A și Ch ca toate speciile *Neisseria* și *Branhamella* (vezi pag. 348). Este prima specie la care s-a observat apariția de tulpini rezistente (R), întîi la sulfamide (Su), apoi R crescîndă la peniciline (P), streptomicină (S) și, treptat, la toate celelalte A*.

Procentele de tulpini rezistente față de fiecare A. și gradul de rezistență (CMI) variază foarte mult de la regiune la regiune.

Rezistența la Su observată din primii ani de folosire în terapie se datorește selecției de mutanți producători de acid paraaminobenzoic în exces; în 1946, 10—90% din tulpini erau R; procente care au scăzut ulterior odată cu înlocuirea sulfamidelor în terapie prin peniciline.

Rezistența la streptomicină a crescut progresiv prin selecție de mutanți tot mai rezistenți, de la CMI = 1,5—5—10 μg/ml unele tulpini au atins CMI = 1 000 μg/ml; se înregistrează adesea rezistența încrucișată cu alte oligozaharide (N/K).

Rezistența la P: în 1943, gonococul era sensibil la 0,002—0,005 U/ml; în 1955, pentru majoritatea tulpinilor, CMI ajunsese la 0,03 U/ml dar terapia cu 300000 U dădea încă rezultate bune; în 1975 cele mai multe tulpini se arătau moderat rezistente (CMI=0,06—0,1—0,6U/ml; pentru unele tulpini CMI = 1—2—3,5 U/ml).

În 1976 au apărut tulpini înalt rezistente la P prin producere de penicilinază; CMI față de astfel de tulpini depășesc limitele considerate anterior stabilizate, atingînd 3—16 μg/ml (1 U = 0,6 μg P) și astfel dozele de P utilizabile în terapie; astfel de tulpini au fost puse în evidență în aproximativ 19 țări din toate continentele; prevalența infecțiilor cu gonococ producător de beta-lactamază (în țări care fac acest control) este foarte variabilă, de la 1—2%, la 30—40% (în unele zone din Filipine); pe tulpini izolate de noi la Iași în 1978—1979, procentul a fost zero.

---

* Gonococul este sensibil și la rifamicine, dar, utilizarea acestora în terapia gonoreelor este *inutilă* (avînd în vedere spectrul foarte larg de sensibilitate a gonococului la alte A și Ch, pe lîngă faptul că unele tulpini de gonococ sînt rezistente la rifamicină) și *periculoasă*: duce la creșterea procentului de bacili Koch rezistenți la unicul A. în adevăr valoros în terapia tuberculozei.

Producerea de penicilinază este codificată de un fR plasmidic, transferabil prin conjugare, despre care se crede că a fost cîștigat de la bacili gram-negativ. Aceste tulpini producătoare de penicilinază rezistă și la doze de aproximativ 30 de ori mai mari de ampicilină, majoritatea sînt rezistente și la alte antibiotice (T, S, M, Cef, unele și la rifamicine), dar s-au arătat sensibile la spectinomicină.

Consecințe terapeutice. Numărul de tulpini de gonococ cu rezistență înaltă la penicilină este încă redus și grupul științific OMS întrunit în noiembrie 1976 a recomandat ca penicilina să rămînă A. de elecție pentru terapia inițială a gonoreelor necomplicate (fiind cel mai ieftin, capabil să sterilizeze și eventuala infecție sifilitică* ; asigură încă cel mai înalt indice de eficiență terapeutică $\geqslant 96{,}8\%$: concentrațiile mari asigură o suficientă penetrație în PN (în care gonococii pot supraviețui și, probabil, înmulți).

Eșecurile terapeutice la P se pot datora nu numai tulpinilor R ci și *greșelilor de diagnostic bacteriologic* (infecţii cu *Chlamydia* și suprainfecții cu *Trichomonas, Candida albicans*, sau *Haemophilus vaginalis*), ca și *reinfecţiilor de la partener netratat, complicaţiilor de vecinătate* cu sechestrarea gonococului în sedii inaccesibile antibioticelor (abcese ale glandelor anexe, Bartholin, prostată, salpinge etc.) în care doar intervenția chirurgicală este, cel mai adesea, salutară.

Indiferent de A., corect utilizat, sterilizarea bacteriologică precede întotdeauna completa vindecare a leziunilor și o secreție mai poate persista cîteva zile după terminarea curei**.

Decelarea bacteriologică a cauzei eșecului terapiei se practică, de aceea, numai la 7—14 zile după cură și constă din culturi efectuate din uretră, endocervix, orificiile glandelor anexe, regiunea anorectală. Bolnavii cu diagnostic bacteriologic pozitiv după acest interval pot fi tratați cu alt A în baza cunoașterii *pattern*-ului real de sensibilitate la A a tulpinilor circulante în zona respectivă, sau antibiogramei individuale prin determinarea CMI.

i. PROFILAXIA

Profilaxia gonoreei este nespecifică; teoretic, ca și sifilisul, gonoreea ar putea fi eradicată deoarece omul infectat este singura gazdă naturală a acestor bacterii (dar, vezi moto). O astfel de profilaxie are ca principiu :

prevenirea contaminării prin măsuri riguroase de igienă a contactului sexual pe baza marii sensibilităţi a acestor bacterii la apă, săpun și ușoare antiseptice, alături de evitarea contactului cu persoane necunoscute;

prevenirea cronicizării infecţiei prin terapie precoce a fiecărei infecţii aparente și inaparente, singura capabilă să asigure sterilizarea de gonococ; acolo unde infecția inaparentă nu poate fi depistată, se recomandă tratamentul concomitent al partenerului sexual al fiecărui bolnav cu gonoree.

---

* Peste 3% din indivizi contractează odată cu gonoreea și sifilisul.

**Examenele clinice, autoexaminările și recoltele pentru examene bacteriologice repetate, ca și tratamentele locale, adesea folosite în această etapă, duc, cel mult, la „uretrite mecanice" care în plus se pot ușor suprainfecta cu alte microorganisme, favorizînd complicaţii greu de tratat.

Depistarea corectă a rezervorului de infecţie asimptomatică poate fi făcută prin gonocultură; deoarece metoda este costisitoare, se fac eforturi pentru înlocuirea prin serodiagnostic (SD); cînd va fi obţinut antigenul gonococic, va fi inclus în bateria de antigene, alături de cele folosite pentru diagnosticul sifilisului; se va realiza astfel *bateria de antigene pentru SD în MTS*.

În cazul contactului sexual sigur infectant, se aplică antibioticoprofilaxie cu dozele folosite în terapia gonoreei necomplicate.

Profilaxia oftalmiei *neonatorum* se face şi azi prin instilaţii de 1—2 picături NO_3Ag 1%, soluţie proaspăt preparată (metoda *Credé*). Nu se mai recomandă folosirea penicilinei sau a altor A.

Imunoprofilaxia, vaccinul antigonococic, rămîne un deziderat*.

2. NEISSERIA MENINGITIDIS SAU MENINGOCOCUL

N. meningitidis, cu 4 serogrupe principale, bacterie comensală şi înalt patogenă numai pentru om, determină cele mai multe din meningitele bacteriene şi este agentul meningitei cerebro-spinale epidemice (m. c. s. e.), importantă cauză de boală, de moarte, sau sechele meningo-encefalitice, mai ales la vîrsta primei copilării. Incidenţa bolii a crescut în ultimul deceniu în toată lumea, în Europa; tendinţe epidemigene au fost observate şi în ţara noastră; infecţiile sînt date mai ales de serogrupele A, C, B. (tabel 92 B).

Meningococul a fost izolat de *Weichselbaum* în 1887 din lichidul cefalorahidian de la cazuri de m. c. s. e., denumit de el *Diplococcus intracellularis meningitidis*.

Morfotinctorial, în coloraţii simple şi Gram, meningococul nu poate fi diferenţiat de gonococ şi alte specii *Neisseria*. Prin metode speciale (cu ser imun specific de serogrup în reacţie de umflare a capsulei sau imunofluorescenţă şi prin metoda cu tuş de China), la 3/4 din tulpinile de meningococ se poate pune în evidenţă o microcapsulă, atît în produse patologice cît şi în culturi foarte tinere înainte de a interveni autoliza; (microcapsula nu a fost demonstrată la meningococi de grup B).

a. *STRUCTURĂ ANTIGENICĂ ŞI FACTORI DE PATOGENITATE*

Structura antigenică a meningococului este în plin studiu impus de incidenţa crescîndă a bolii, concomitent cu creşterea rezistenţei la A şi Ch, aspecte care fac tot mai necesară obţinerea vaccinului (-lor) antimeningococic.

---

* Limitarea răspîndirii pe glob a tulpinilor producătoare de β-lactamază prin fR plasmidic este o sarcină nouă recomandată insistent de experţii OMS (*Tehnical Report Series*, nr. 601, 1978); în acest scop se indică: reexaminare pentru confirmarea vindecării, izolarea gonococului în cazuri de ineficienţă terapeutică a penicilinei G şi efectuarea testului pentru producere de β-lactamază la tulpinile izolate.

Raportul subliniază încă odată că: „Accesul fără restricţii la medicamentele antimicrobiene în unele părţi pe glob, care încurajează *self*-medicaţia cu doze care pot suprima dar nu vindeca infecţia, şi folosirea de scheme neadecvate de tratament de către medici, sînt factorii predominanţi în apariţia tulpinilor de gonococ rezistente la antibiotice, încît droguri mai scumpe sînt necesare pentru terapie".

(i) *Antigene de specificitate.* Au fost descrise structuri corpusculare care împart specia în serogrupe, serogrupele în serotipuri, ca şi structuri comune şi altor specii:

Polizaharizii capsulari cu specificitate de serogrup, bine definiţi biochimic, împart specia în 4 serogrupe principale, A, B, C, D, care dau cele mai multe infecţii, şi serogrupele X, Y, Z, Z′, W_{135}, rar întîlnite; un procent mic de tulpini rămîn totuşi negrupabile şi noi grupe serologice, încă neomologate, au fost descrise.

În scopuri epidemiologice, identificarea se face cu seruri adsorbite specifice de serogrup, prin reacţii de *aglutinare* (în tub, pe lamă şi cel mai bine pe placă cu godeuri), *inhibarea creşterii pe medii cu ser, umflarea capsulei* (dă rezultate mai puţin evidente decît pentru pneumococ şi nu este obţinută cu tulpini de grup B). Polizaharidele capsulare au gr. mol. mare dar, înalt purificate, se comportă ca haptene. Tulpinele cu polizaharid capsular sînt virulente şi dau colonii S.

Proteine de perete cu specificitate de serotip au fost puse în evidenţă pentru unele serogrupe: grupul B are cel puţin 11 serotipuri (unele dau reacţii încrucişate cu serogrupele C, Y); grupul C are două serotipuri.

Proteină cu specificitate de specie a fost demonstrată de unele studii.

Proteină sau nucleoproteină cu specificitate de gen (substanţa P) este prezentă la toate speciile *Neisseria*, meningococul dînd cele mai multe reacţii încrucişate cu gonococul.

(ii) *Factori de patogenitate.* Meningococul este o bacterie *virulentă* şi *sensibilizantă, netoxigenă.*

Principalul factor de virulenţă este capsula polizaharidică cu proprietăţi antifagocitare (anticorpi opsonizanţi anticapsulari protejează gazda de infecţie favorizînd fagocitoza); meningococul ar elibera şi o protează care clivează IgA_1, permiţîndu-i supravieţuirea pe mucoasă şi colonizarea.

Polizaharizii capsulari asociaţi cu polipeptide, de asemenea de perete, sînt foarte imunogeni.

Capacitatea sensibilizantă aparţine lipopolizaharidului de perete (v. gonococ).

Cultivarea şi vitalitatea meningococului sînt similare celor descrise, pentru gonococ: caractere diferenţiale în tabelul 45.

Meningococul diferă de gonococ şi prin capacitatea de a determina beta-hemoliză în 48—72 ore pe geloză cu 5% sînge de cal.

b. *INFECŢIA MENINGOCOCICĂ*

Habitat şi contaminare. Omul este singura gazdă naturală, meningococul fiind prezent numai pe mucoasa rinofaringiană *(cavum)*.

Transmiterea are loc pe cale respiratorie prin picături Pflügge; datorită însă sensibilităţii mari la uscăciune (la temp. camerii mor în 3 ore) şi a comensalismului obligator, este necesar un contact strîns, realizabil în familie, coabitare în condiţii de aglomeraţie în dormitoare şi „ignorarea regulilor elementare de igienă" (Albert, 1976). Ca urmare, apariţia micilor „buchete" de m. c. s. e. are loc în familie, creşe, cămine, cazărmi.

Rata purtătorilor sănătoși este foarte variabilă ; uneori, în unele regiuni nu există purtători ; cel mai adesea procentul variază între 2—30%, putînd atinge în perioade epidemice și 70—80%.

Boala poate evolua sporadic sau epidemic ; apariția epidemiei este totdeauna favorizată de aglomerarea de masă receptivă (indivizi neimunizați), scăderea rezistenței locale a mucoasei nazofaringiene (răceală, viroze anterioare).

Infecția meningococică evoluează cel mai adesea *inaparent* sau ca *boală minoră* redusă la o ușoară inflamație la poarta de intrare — mucoasa rinofaringiană—cu coriză, ușoară faringită exsudativă, uneori purulentă, uneori extinderi de vecinătate (otite, iridociclite), care rămîn cel mai adesea nediagnosticate. Aceste infecții asigură *imunizarea care se instalează odată cu vîrsta* față de diferitele serogrupe. Ca urmare, deși rata purtătorilor este mai mare la vîrstnici* îmbolnăvirile sînt mai frecvente la copii și tineri încă neimunizați și, chiar în epidemii, morbiditatea prin m. c. s. e. nu depășește 0,1—0,3%.

Patogeneza. Nu au fost definiți încă factorii locali (poate biochimici-nutritivi) cărora li se datorește afinitatea specială a meningococului pentru mucoasa *cavum-ului*. Colonizarea și invazia acesteia sînt favorizate de paralizia temporară a apărării locale nespecifice (frig, viroze). Capsula polizaharidică asigură rezistența la fagocitoză și invadarea mucoasei, urmată de inflamație minoră. Inaparentă sau aparentă, această infecție minoră poate determina complicațiile cele mai grave, *septicemii cu posibilități de evoluție fulminantă*, *meningite*.

Meningococul ajunge în circulație, într-un număr redus de cazuri, fie direct prin rupturi vasculare, fie cu polinuclearele care îl înglobează. Localizări metastatice pot avea loc în seroase, în organe (suprarenale, glomerul, pulmon), cel mai adesea în meninge*.

Imunopatogeneză. Bacteriemia meningococică se complică adesea cu șoc ,,endotoxinic'' (meningococemie fulminantă) care omoară în 6—24 ore cu manifestări de colaps vascular. Se datorează leziunilor de endovascularită (arteriole, capilare) caracteristice sindromului de coagulare intravasculară diseminată ; hemoragii și chiar necroze au loc în toate sediile de metastază bacteriană.

Rapiditatea și frecvența cu care se instalează șocul meningococic poate fi explicat prin complexe imune : eliberare masivă de ,,endotoxină'' în timpul autolizei (caracteristică meningococului) și *booster*-efect în Ac față de lipoidul ubiquitar și celorlalte antigene comune serogrupelor de meningococ și altor specii *Neisseria* cu care organismul a avut repetate contacte anterioare imunologic eficiente (starea de sensibilizare). *McGracken* și *Sarff*, 1976, au demonstrat relația directă între prezența, persistența și concentrația de ,,endotoxină'' în l.c.r. și prognosticul meningitelor cu gram-negativi și au pus în evidență ,,endotoxină'' în toate meningitele meningococice cercetate.

---

* Meningite posttraumatice pot fi date și de accidental-patogeni, bacterii și fungi, saprofiți ai mediului extern (apă, sol) care pot contamina frecvent tegumente (*Acinetobacter*, *Criptococcus* etc.).

Frecvența meningitelor, comparativ cu alte localizări secundare, poate fi datorată unui tropism special al meningococului pentru leptomeninge (neexplicat încă), dar poate fi datorată și căii directe de acces: de la mucoasa inflamată care căptușește *cavum* (eventual și urechea internă), meningococul ar ajunge la meninge, fie pe calea limfatică, transportat de PN, fie prin contiguitate, perineural, pe calea tecilor arahnoide ale nervilor olfactivi care străbat formațiunea anatomic fragilă reprezentată de *lamina criblata* ce separă *cavum* de meningele bazal. Ipoteza este susținută de faptul că inflamația prinde mai frecvent și inițial meningele bazal, și apoi cel spinal, ca și de faptul că această cale a fost demonstrată deja pentru virusuri *(Mims)*.

Reacția inflamatorie prinde piamater și arahnoida (suprafața creierului putînd fi acoperită de un exsudat purulent) ceea ce implică și un grad de encefalită. Dacă infecția durează, în l. c. r. se acumulează celule cu puroi, iar meningococii fagocitați asigură diseminarea cerebro-spinală.

În infecția netratată, letalitatea atinge 70—80%, în cea tratată, este de 2—17%; și are loc cel mai adesea prin șoc endotoxinic.

Imunitatea în infecția meningococică este umorală prin Ac anticapsulari, specifică de serogrup: în amestec cu ser imun, meningococii sînt lizați în prezența C și rapid fagocitați de PN.

Prezența Ac în ser poate fi pusă în evidență prin reacții de aglutinare, hemaglutinare (cu polizaharizi de grup adsorbiți pe hematii, ca Ag), RFC.

Imunizarea ocultă asigură un titru de Ig, prezente la cei mai mulți din adulți, care transmise transplacentar explică rezistența la infecția meningococică în prima lună de viață (aspect demonstrat de numeroase statistici).

A fost demonstrată posibilitatea prevenirii infecției cu ser antimeningococic și cu vaccin specific de grup.

Lipsa de eficiență a anticorpilor în eradicarea stării de portaj ar putea fi explicată azi prin proteaza anti-IgA demonstrată la meningococ și prin varietatea antigenică a meningococului.

Infecţia experimentală a fost obţinută la *șoarece* prin inoculare i. p. de meningococi capsulaţi înglobaţi în mucină gastrică de porc; la *embrionul de găină* de diferite vîrste (cel mai bine de 12 zile) inoculat i. v.; pe uvea de *iepure* (răspunsul inflamator observat fiind tipic de tip celular întîrziat); la *maimuţă* și iepure prin inoculare intratraheală.

Epidemiologie. Infecția meningococică este endemică. Prevalența principalelor serogrupe de meningococ A, B, C pe glob este diferită de la regiune la regiune și ciclică în aceeași regiune: periodicitatea naturală este determinată de imunizarea ocultă a populației față de serogrupul epidemigen, presiune imunologică care impune înlocuirea cu alt grup antigenic ce devine astfel prevalent.

Acest aspect, alături de incidența crescîndă a infecției meningococice, stă la baza necesității actuale a introducerii unui vaccin mixt antimeningococic în toate țările cu morbiditate mare.

c. *DIAGNOSTICUL DE LABORATOR*

Prognosticul meningitelor bacteriene și micotice depinde strict de intervalul care se scurge între debutul infecției și instituirea terapiei: orice întîrziere duce la moarte sau la alterări permanente ale creierului. De aceea, *precizarea etiologiei meningitelor este un diagnostic de cea mai mare urgență*, valoare pentru bolnav avînd numai testele rapide: recoltarea l. c. r. și a sîngelui, însămînțările și testele de diagnostic prezumtiv (citobacteriologic și chimic) trebuie efectuate repede încît terapia de urgență, logică, să poată fi începută în decurs de o oră de la elaborarea suspiciunii clinice de meningită (febră, cefalee, simptome neurologice meningo-encefalitice, mai ales cînd sînt precedate de traumatisme craniene sau spinale, infecții anterioare ale TRS și TRI, intestinale, bacteriemice).

Serodiagnosticul are numai interes epidemiologic.

Testele de laborator urmăresc:

— diferențierea (i) meningitelor bacteriene, cu pleiocitoză, de (ii) sindroame meningeale cu pleiocitoză și lichid steril (așa-numite ,,meningite sterile'' prin hemoragii subarahnoidiene, neoplasme de vecinătate și de (iii) meningitele—meningoencefalitele cu lichid clar date de virusuri, micete, protozoare, bacilul tuberculozei*;

— precizarea etiologiei bacteriene (fig. 92 B);

— antibiograma, ori de cîte ori este nevoie.

Recoltare. La purtătorul sănătos și în infecția la poarta de intrare (rinofaringite, otite medii), meningococul este pus în evidență în *exsudat rinofaringian recoltat din cavum* cu tampon cudat (montat pe sîrmă subțire) însămînțat pe medii selective (cu antibiotice, v. gonococ); metoda de însămînțare semicantitativă (fig. 79) permite diferențierea celor două stări.

În boala gravă, *N. meningitidis* poate fi pus în evidență în *sînge*, în frotiu și *prin hemoculturi*, și în l.c.r. (mai rar în lichide din seroase și serozitate extrasă din peteșii cutanate), prin *examenul microscopic* al probelor și în *culturi* pe medii solide (fără antibiotice).

Examenul l.c.r.

Recoltarea l.c.r. se face în condiții de perfectă asepsie**, înainte de administrarea antibioticului***: 1—2 ml lichid sînt însămînțați la patul bolnavului, pe medii încălzite la 30—37°C și imediat incubate (v. gonococ); restul l.c.r. este introdus în tub de centrifugă steril. Macroscopic, l.c.r. poate fi clar sau purulent, în raport de stadiul infecției.

Examenul citobacteriologic: din lichidul reținut, cîte o picătură, este folosită pentru (a) *examenul citologic cantitativ* (numărul de leucocite/ml) și *calitativ* (în frotiu colorat Giemsa, raportul PN/L și M avînd în vedere eventuala prezență a celulelor neoplazice); restul de lichid este centrifugat (20 min. la 2 000 ture)****: (b) supernatantul este folosit pentru *examen chimic* (dozare proteine, zahăr, acid lactic); (c) din sediment se fac frotiuri pentru *examen microbiologic* (bacterii, micete); orice rest de sediment este însămînțat, în plăci, sau incubat ca atare.

Pleiocitoză cu neutrofilie, glicorahie scăzută, acid lactic și proteine crescute pledează pentru meningite bacteriene (exceptînd pe cea tuberculoasă).

---

* Meningitele bacteriene și fungice pot fi tratate.

** Puncția rahidiană incorectă din acest punct de vedere este o sursă de ,,meningite bacteriene iatrogene'', cu condiționat patogeni de spital sau cu accidental patogeni.

*** Încercările de izolare a meningococului după 24 ore de la administrarea A sînt inutile.

**** Dacă se presupune prezența *H. influenzae*, lichidul este centrifugat 15 min. la 10 000 ture, sau 60 min. la 1 000—2 000 ture/min.

În meningita meningococică, în frotiul colorat Gram, apar diplococi gram-negativ extra- şi intracelular (de unde şi numele de *intracellularis*); de obicei în număr mai mic decît în infecţie gonococică (fig. 90). Acest aspect permite numai diagnosticul prezumtiv de infecţie meningococică (şi alţi diplococi şi cocobacili care-i mimează pot da meningite).

Prezenţa de diplo şi tetrade în frotiu este caracteristică speciilor *Neisseria* (care se divid în planuri perpendiculare); prezenţa de diplo şi scurte lanţuri indică cocobacilii gram-negativ (care se divid în planuri paralele); aspect important pentru terapia de urgenţă, deoarece unii cocobacili (*Acinetobacter*, *H. influenzae* etc.) nu sînt sensibili la peniciline de biosinteză.

Lipsa bacteriilor în frotiu este afirmată după ce au fost examinate minimum 50 cîmpuri microscopice, dar nu infirmă diagnosticul de infecţie bacteriană; cînd lichidul este clar, al doilea frotiu este colorat Ziehl-Neelsen pentru eventuala evidenţiere a bacilului Koch; un preparat tratat cu tuş de China (India) poate diagnostica o meningită micotică (*Criptococcus*).

Prezenţa de diplococi gram-negativ în frotiu de l.c.r. permite tratament pe baza sensibilităţii lor naturale la A şi Ch; de elecţie este penici-

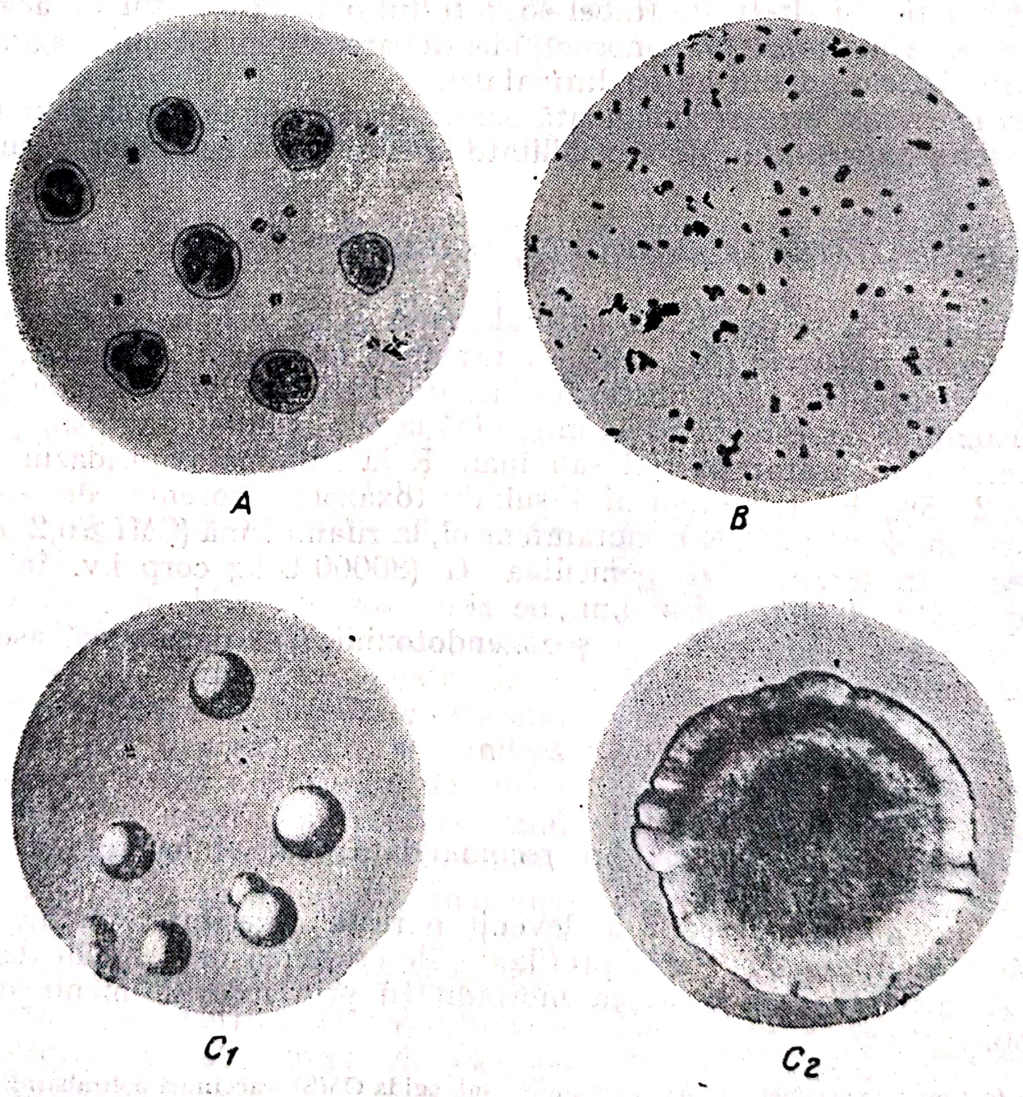


Fig. 90: *N. meningitidis*:
(A) Frotiu din LCR; (B) frotiu din cultură. (C_1) colonii S de 24 ore; (C_2) colonie R de 7 zile pe geloză-ser (*Topley* 1955).

lina G în perfuzii în doze bactericide (15—20 mil. U/zi) sau cloramfenicol la bolnavi alergici la peniciline.

Identificarea serologică rapidă în sediment de l.c.r. este posibilă cu ser antimeningococic polivalent sau cu seruri specifice de grup A, B, C (cei mai circulanți); se pot folosi: (a) *teste de umflare* a capsulei (nu și pentru meningococi grup B), (b) *identificare cu AF* (are avantajul decelării mai ușoare a menigococilor în lichide paucimicrobiene, inclusiv a meningococilor morți, în cazuri deja tratate); (c) *imunoelectroforeza* contracurent (permite identificarea infecției meningococice, în cazurile în care meningococii sînt autolizați, necultivabili, dar antigene solubile sînt încă prezente; reacția este mai sensibilă decît testele de precipitare în lichid; este posibilă și cu lichid din sinoviale, plasmă).

Identificarea coloniilor poate fi făcută după 6 ore de cultivare prin teste serologice (umflarea capsulei, sau test direct cu AF) și în preparate tratate cu tuș de China (pentru capsulă); după 18—20 ore cînd coloniile sînt evidente (rotunde, netede, strălucitoare, nepigmentate, translucide, aproximativ 1 mm Ø, untoase la atingerea cu ansa, ușor de suspendat în soluție salină) se pot practica și alte teste (tabel 45): testul oxidazei, testul de acidifiere a glucozei și maltozei (v. gonococ), identificare serologică prin aglutinare (culturile bătrîne devin autoaglutinabile).

Antibiograma este recomandată pentru fiecare tulpină izolată în scopul cunoașterii *pattern-ului* de sensibilitate la A și Ch a tulpinilor circulante.

d. *SENSIBILITATEA LA ANTIBIOTICE, TRATAMENT*

Sensibilitatea și rezistența naturală la A și Ch este aceeași ca pentru toate speciile *Neisseria* (pag. 348). Ca urmare a folosirii în profilaxie, dobîndirea rezistenței (R) a fost observată încă din 1940 față de sulfamide (pragul de rezistență la Su este de 50 μg/ml); pînă la 50% tulpini din toate grupele antigenice s-au arătat parțial sau înalt R la sulfametoxipiridazin, sulfadoxin, 2—5% la trimetoprim + sulfametoxazol; procente de 4—16% R la streptomicină; 1% R la cloramfenicol, la rifampicină (CMI $\geqslant 0,2$ μg/ml). De elecție în terapie este penicilina G (80000 U/kg corp i.v. în prima oră, apoi 240000 U/kg corp, i.m., pe zi).

În prezența fenomenelor de șoc „endotoxinic" se recomandă asocierea terapiei antialergice.

e. *PROFILAXIE*

Chimioprofilaxia, mult timp recomandată, este înlocuită în zonele epidemice prin vaccinare.

Vaccinul antimeningococic a devenit o reală necesitate, justificată de lipsa de eficiență a A și Su în profilaxie, de creșterea procentelor de rezistență și, mai ales, de creșterea morbidității prin infecții meningococice pe glob.

Au fost mult experimentate (cel mai adesea sub egida OMS) vaccinuri polizaharidice A, C mai puțin B, înalt purificate; bilanțul nu este cel mai bun. Logica imunologică demonstrează prin aceste experiențe, încă o dată, că în lipsa suportului proteic, polizaharidele, chiar cele

cu gr. mol. mare, se comportă ca haptene, dînd rezultate la copii peste 2—3 ani (probabil datorate contactelor oculte anterioare cu Ag meningococice imunologic eficiente, cap. XV) și puțin eficace la sugari*.

Experiențe de laborator, încă izolate, demonstrează că vaccinuri proteino-polizaharidice complexe ,,au conferit o imunitate considerabilă la proba cu meningococi de grupe diferite'' (Rapp. technique OMS, 588, p. 10, 1976).

B. GENUL BRANHAMELLA

Cuprinde numai specia *B. catarrhalis* (fostă *Neisseria catarrhalis*), comensal al mucoasei rinofaringiene, mai rar genitale. Variante capsulate (fig. 91) sînt asociate uneori în supurații bronhopulmonare; determină accidental meningite. Crește pe medii simple și la 22°C (tabel 45); aerob (produce catalază și citocrom-oxidază).

Are aceeași sensibilitate naturală la A și Ch. ca și speciile *Neisseria* și este supusă fenomenelor de dobîndire a rezistenței (v. pag. 348—349).

C. GENUL MORAXELLA

Cuprinde cocobacili pleomorfi, coci lanceolați, bacili scurți și groși (1,5—3,0/0,8—1,2 µm), fimbriați și capsulați; în frotiu din produs patologic apar cel mai adesea în perechi și scurte lanțuri (diviziune în planuri paralele), mai rar filamentoși, adesea fagocitați (în PN și M).

Cresc numai pe medii compuse la temp. optimă de 35°C, *p*H 7—7,5, *strict aerob* (oxidază-pozitiv, catalază frecvent pozitiv); foarte sensibili la peniciline ca și la A cu spectru larg, la polimixine și sulfamide. Nu produc indol și H_2S, nu acidifică glucoza.

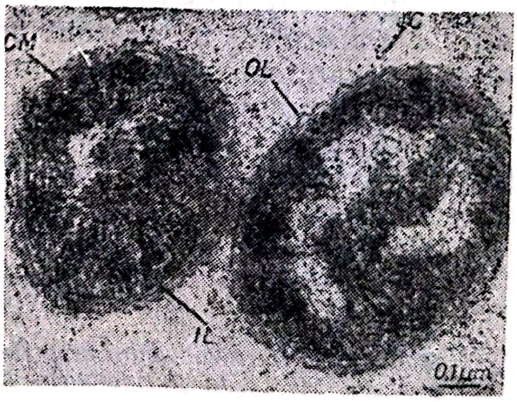


Fig. 91: *B. Catarrhalis*, secțiune prin celulă în diviziune:

OL (stratul exterior) și IL (stratul intermediar) al peretelui celular; M (membrana citoplasmică); C (capsula). (Din *Bergey's Manual*, 1975; electronografie × 90 000.)

Nu sînt patogeni pentru animale de laborator.

Specia tip *M. lacunata* este un comensal al rinofaringelui la om; transportat de mîini murdare, poate da o *conjunctivită angulară bilaterală subacută*, trenantă, dar benignă, care se vindecă ușor prin instituirea măsurilor de igienă și antiseptice ușoare, în prezent fiind tot mai rară. *M. lacunata* a fost menționată rareori și în meningite, mai ales la nou-născut, bacteriemii, localizări pe endocard anterior lezat și chiar pe seroase.

Diagnostic. Pentru izolare se recomandă geloza cu 5% sînge de cal, pe

---

[*] **Vaccinuri meningococice polizaharidice, serogrup A și C au fost de curind introduse în USA (*Wkly Epidem. Rec.*, 1978, 43, p. 309).**

care dă cel mai adesea colonii S, de 0,1—0,3 mm Ø (unele tulpini dau colonii mai mari, 3 mm Ø), mai opace ca cele de pneumococ, nehemolitice, bombate, netede; pe geloză-chocolat coloniile se înconjură de largi zone întunecate; pe ser coagulat și pe gelatină dau zone mari de proteoliză (de unde denumirea de *lacunata*).

Pe mucoasa nazofaringiană și chiar genitală pot fi prezente și alte specii *M. nonliquefaciens*, *phenylpyruvica*, *osloensis*, patogenitate nedemonstrată (*M. bovis*, hemolitic, este agentul unei conjunctivite epizootice a bovinelor).

D. GENUL ACINETOBACTER

Genul *Acinetobacter*[1] are o singură specie *A. calcoaceticus*[2], foarte heterogenă:

cocobacili scurți și groși (1,5—2,5/1—1,5 µm) în faza exponențială a creșterii, coci în faza staționară, așezați în perechi, ,,mimînd'' diplococii, sau lanțuri scurte (frecvent pot apărea coci mari și filamente), cu diviziune în planuri paralele; unele tulpini sînt capsulate și fimbriate;

— strict aerobi (oxidază-negativ, catalază pozitiv), *cresc ușor pe medii simple* cu *p*H 7, la 30°—32°C, dînd în 24 ore colonii de 2—3 mm Ø, albe, S sau M, aderente; (pe medii speciale cu 0,5% tripsină, 0,5% acetat, extract de drojdie 0,5%, au tendință de împrăștiere în suprafață); unele tulpini dau zone largi de hemoliză pe geloză cu sînge de oaie;

— nu produc indol, H_2S; unele lichefiază gelatina; specia cuprinde atît tulpini formatoare de acid[3] pe medii cu L-arabinoză, D-xiloză, D-riboză, D-glucoză, D-galactoză, D-manoză, lactoză, cît și tulpini neformatoare de acid[4];

— sensibilitatea la A. este similară bacililor gram-negativ: *natural rezistent* la penicilinele de biosinteză (CMI $\geqslant$ 5—100 µg/ml); *natural sensibil* numai la A. cu spectru larg și polimixine; supus fenomenelor de *dobîndire a rezistenței*, în prezent majoritatea tulpinilor fiind rezistente mai ales la cloramfenicol, novobiocină, streptomicină, cu sensibilitate în general păstrată la polimixine.

Acinetobacter calcoaceticus[5] este un saprofit al mediului extern, prezent în sol și ape care poate contamina mucoasele (și medii de cultură). Tulpini capsulate au fost demonstrate ca infectanți accidentali în *meningite*[6] posttraumatice, după intervenții neurochirurgicale, sau puncții lombare, însoțite de bacteriemii. (Unii cercetători afirmă posibilitatea apariției de mici explozii epidemice la purtători rinofaringieni, posibilitate care necesită încă a fi demonstrată.)

---

[1] Fost *Moraxella* grup II (*Brisou*, 1975).

[2] De la acetatul de calciu folosit de *Beijerinck* pentru îmbogățirea mediului pe care a izolat această bacterie.

[3] Sinonime: *Herellea vaginicola*, *Bacterium (Achromobacter) anitratum*, *Neisseria winogradsky*, *Moraxella glucidolytica*, *Achromobacter conjunctivae (haemolyticus*, *glucidolytica)*, *Lingelshemia anitrata*.

[4] Sinonime: *Alcaligenes haemolysans*, *Moraxella (Acinetobacter) lwofii*, *Achromobacter haemolyticus (citroalcaligens*, *B5W*, *Vibrio Q1*; *Mima polymorpha*. În actuala clasificare specia *Acinetobacter calcoaceticus* include majoritatea speciilor care alcătuiau tribul *Mimae* constituit de *De Bord* în 1942.

[5] Multe tulpini au caractere intermediare genurilor *Moraxella* și *Acinetobacter*, din care unele fermentează glucoza, maltoza și așteaptă să fie clasate.

[6] Începînd din 1948 cînd *De Bord* a descris această bacterie sub numele de *Mima polymorpha*.

Diagnosticul etiologic este numai microbiologic bazat pe identificarea tulpinii izolată din l.c.r. ca aparținînd speciei *A. calcoaceticus*. Confirmarea că tulpina cultivată este în adevăr infectantul și nu un contaminant oarecare este posibil pe baza:

— prezenței aceleiași morfologii în cultură și în frotiurile din sediment de centrifugare al l.c.r. (specia poate fi prezentă și extra- și intracelular);

— reizolarea aceleiași tulpini (biotip) din l.c.r., sau

— izolarea aceluiași biotip din l.c.r. și din sînge*.

Antibiograma este importantă deoarece poate fi confundat în examenul direct cu meningococul (care este sensibil la penicilină).

BIBLIOGRAFIE

1. ALBERT J. P., ETIENNE J.: Le point sur la méningite cérébro-spinale, C. M., 3—4, 2089—2098, 1976.

2. ANTONESCU ST., POPESCU A., OLARU V.: Megacillin forte în tratamentul gonoreei acute a bărbatului. *Dermato-Vener.*, 4, 273—280, 1976.

3. APICELLA M. A.: Serogrouping of *N. gonorrhoeae*: identification of four immunologically distinct acid polysaccharides. *J. Infect. Dis.*, *134*, 377—383, 1976.

4. ARTENSTEIN M. S.: III. Studies of group A polysaccharides vaccines. *Bull. OMS*, *45*, 283—286, 1971.

5. BEEBE J. L., LIGETI P., WLODKOWSKI T. J.: Absence of penicillindegrading enzymes in penicillin-resistant strains of *N. gonorrhoeae*. *Antimicrob. Ag. Chemother.*, *10*, *1*, 179—181, 1976.

5. BURIAN V., GOTSCHLICH E. et all. Naturally occuring antibodies to *Neisseria meningitidis*. *Bull. W. H. O.*, *55*, 6, 653—657, 1977.

6. CAHALANE S. F., WATERS M.: Fulminant meningococcal septicaemia. *Lancet*, july 19, 1920—1921, 1975.

7. DEACON W. E.: Florescent antibody method for *N. gonorrhoeae* identification. *Bull. OMS*, *24*, 3, 349—355, 1961.

---

* Criterii valabile pentru implicarea ca infectant al oricărui accidental patogen.

8. DEVINE F. F. et all.: Rifampicine et porteurs sains de méningocoque. *Presse Méd.*, 79, 13, p. 587, 1971.

9. DIMACHE V.: Infecţiile meningococice şi gonococice. *Teză de doctorat*, Bucureşti, 1974.

10. ENGEL KIRK P. G., SCHOENHARD D. E.: Physical evidence of plasmid in *N. gonorrhoeae. J. Infect. Dis.*, *127*, 2, p. 197, 1973.

11. FARRIES J. S., DICKSON W. et all.: Meningococcal infections in Boston, 1971—1974. *Lancet*, july 19, 118—120, 1975.

12. FEENEY J. G., BADRI A. E.: Screening for gonococcal salpingitis. *Lancet*, *11*, 7 998, p. 1 309, 1976.

13. FRASER P. K. et all.: The meningococcal carrier-rate. *Lancet*, 7 814, 1 235—1 237, 1973.

14. FRASCH C. E., CHAPMAN S. S.: Classification of *N. gonorrhoeae* group B into distinct serotypes. *J. Infect. Dis.*, *127*, 2, 149—154, 1973.

15. GOULD D.: Les ravages de Vénus. Souches résistantes. *Santé du Monde* (OMS), nov., 8—11, 1976.

16. GOLDACRE M. J.: Acute bacterial meningitis in childhood. Incidence and mortality in defined population. *Lancet*, 7 949, 28—31, 1976.

17. GOTSCHLICH E. C., LIU T. Y., ARTENSTEIN M. S.: Human immunity to the meningococcus. III. Preparation and immunochemical properties of the group A, B and C meningococcal polysacharides. *J. Exp. Med.*, *129*, 1 349—1 365, 1969.

8. KARNEY W. W., PEDERSEN H. B. et all.: Spectinomycin versus tetracycline for the treatment of gonorrhea. *N. Engl. J. Med.*, *296*, 16, p. 889, 1977.

19. KAUFMAN R. E. et all.: National gonorrhea. Therapy monitoring study. *N. Engl. J. Med.*, *294*, 1, 1—4, 1976.

20. KLINE B. C.: Pili, plasmids and microbial virulence. *Mayo Clin. Proc.*, *51*, 3—5, 1976.

21. LELONG M., POLAERT J. et all.: Quand pourrons-nous disposer d'un vaccin anti-méningoccoccique. *Nouv. Presse Méd.*, *3*, 31, p. 1957, 1974.

22. LEFEBRE P.: Contribution à l'étude clinique et bactériologique des affections à *Moraxella. Thèse Méd.*, Reims, 1967.

23. LEFEVRE M., SIROL J.: Moraxella (Acinetobacter) et syndrome méningé. *Presse Méd.* *77*, 51, p. 1 899, 1969.

24. LOWE T. L., KRAUS S. J.: Quantification of *N. Gonorrhoeae* from women with gonorrhea. *J. Infect. Dis.*, *133*, 6, p. 621, 1976.

25. MACLAND J. A. et all.: Immunochemical investigations on *N. gonorrhoeae* endotoxin. *Acta Path. Microbiol. Scand.*, *79*, 233—238, 1971.

26. MAIER T. W. et all.: Multiple antibiotic resistance in *N. gonorrhoeae. Antimicrob. Ag Chemother*, *6*, 1, 22—28, 1974.

27. MAKELA P. H., KAYHTY H. : Effect of group A meningococcal vaccine in army recruits in Finland. *Lancet*, *7 941*, 883—886, 1975.

28. MARIEN G., S. de MAEYER, VANDEPITTE J., GILQUIN C., WAUTERS G. : La recherche des porteurs de méningocoques. Note technique. *Méd. Malad. Infect.*, *4*, 9, 499—504, 1974.

29. MANESS M. J., SPARLING P. F. : Multiple antibiotic resistance due to a single mutation in *N. gonorrhoeae*. *J. Infect. Dis.*, *128*, 3, 321—330, 1973.

30. MEYER-ROHN J. : Gonorrhoea *Therap. Umschau*, *33*, 1, 26—29, 1976.

31. NJOJU-OBI, AGBO. A. G. : Meningococcal carrier rates in parts of eastern Nigeria. *Bull. OMS*, *54*, 271—273, 1976.

32. OFEK I., BEACHEY E. H., BISNK AL. : Resistance of *N. gonorrhoeae* to phagocytosis : relationship to colonial morphology and surface pili. *J. Infect. Dis.*, *129*, 310—316, 1974.

33. PELTOLA H., MAKELA P. et all. : Clinical efficacy of *Meningococcus* group A capsular polysaccharide vaccine in children three months to five years of age. *N. Engl. J. Med.*, 297, 3, 688—691, 1977.

34. PERERA M. P., LIM K. S. : Asymtomatic urethral gonorrhoea in man, *Brit. Med . J.*, 3, p. 415, 1975.

35. PLAUT A. G. et all. : *N. gonorrhoeae* and *N. meningitidis*. Extracellular enzyme cleaves, human immunoglobulin A. *Science*, 190, p. 1 103, 1975.

36. REY M. et all. : La méningite cérébro-spinale à méningocoque en Afrique. Traitement par injection intramusculaire unique de chloramphenicol (suspension huileuse). *Nouv. Presse Méd.*, *4*, 17, 1975.

37. RMER K. : Bacterial meningitis : a 15-year review of bacterial meningitis from departments of internal medicine. *Danish Med. Bull.*, *24*, 1, 35—40, 1977.

38. SPARKS R. A., DAVIES A. J. : Screening for gonococcal salpingitis and penicillinase-producing gonococci. *Lancet*, 8 004, p. 194, 1977.

39. TOBIN D. M. et all. : Serotypes of group B meningococci. *J. Clin. Path.*, 29, 746—748, 1976.

40. TRIAU R. : Les nouveaux vaccins méningococciques. *Nouv. Presse. Méd.*, *3*, 36, 2 325—2 328, 1975.

41. WAHDAN M. H. et all. : A second controlled field trial of a serogroup A meningococcal polysaccharide vaccine in Alexandria. *Bull. W. H. O.*, *55*, 6, 645—651, 1977.

42. WEISSMAN G., COLIN M. : Disseminated gonococcal infection and tenosynovitis from an asymptomatically infected intrauterine contraceptive device. *N. Engl. J. Med.*, *294*, 598—599, 1976.

43. * * * Antibiotic resistant gonococci. *Brit. Med. J.* dec., p. 696, 1971.

44. * * * The meningococcal disease. Surveillance group: Secondary attack rate and chemoprophylaxis in the United States. *JAMA*, 835, 3, 261—265, 1976.

45. * * * A new complication in the fight against gonorrhea. *WHO Chronicle*, *31*, 1, 38—39, 1977.

46. * * * Transfert de la résistance chez *N. gonorrhoeae*. *Sem. Hôp. Paris*, suppl., 2 sept. 1977.

47. * * * Méningite à meningocoques. O. M. S. *Rélevé épidém. hebd.*, 1976, (nr. 23, 34, 37); 1977 (nr. 24, 34, 48).

48. * * * *N. gonorrhoeae* producing penicillinase. W. H. O. *Wkly Epidem. Rec.* 1976 (nr. 26, 38, 51); 1977 (nr. 45).

49. * * * Lutte contre la méningite cérébro-spinale. O.M.S. *Sér. Rapp. tech.* nr. 588, 1976.

XXIV. COCOBACILI GRAM NEGATIVI

HAEMOPHILUS, BORDETELLA, BRUCELLA, FRANCISELLA, PASTEURELLA, CALYMMATOBACTERIUM, CARDIOBACTERIUM

Este un grup heterogen de genuri a căror încadrare în grupări taxonomice superioare nu este încă definitivată. Speciile care fac parte sînt bacili mici, de 0,15–0,6/0,3–2 μm, numite şi parvobacterii (bacterii mici, de la *parvos* = mic); sînt imobile (excepţie *Bordetella bronchiseptica*); unele formează capsule.

În raport cu habitatul natural, le diferenţiem în genuri şi specii cu habitat mai ales man, sau exclusiv uman,

Bordetella (aerobe),
Haemophilus (facultativ anaerobe),
Calymmatobacterium (facultativ anaerob),
Cardiobacterium (facultativ anaerob) şi

specii cu habitat animal, contaminînd accidental omul,

Brucella (aerobe),
Francisella (aerobe),
Pasteurella (facultativ anaerobe).

Ca factori de patogenitate, toate speciile acestor genuri sînt dotate cu factori de virulenţă (diferiţi) şi ,,endotoxine''; speciile genurilor *Brucella*, *Calymmatobacterium*, probabil şi *Francisella*, sînt bacterii facultativ intracelulare, determinînd fenomene de sensibilizare de tip întîrziat, granuloame (granulom brucelos, *granuloma inguinale*).

Ca sensibilitate la antibiotice, sînt natural sensibile la antibiotice cu spectru larg şi la polimixine; majoritatea sînt natural rezistente la penicilinele de biosinteză, excepţie fac *Pasteurella multocida*, *Haemophilus vaginalis* şi *C. granulomatis*, care sînt sensibile.

Ca importanţă în patologia umană actuală:

Haemophilus influenzae, comensal al TRS şi condiţionat patogen, este specia cea mai importantă pentru patologia actuală din acest grup, mai ales pentru sugar şi copil;

Haemophilus ducreyi, agentul şancrului moale, este în prezent mai ales o problemă a patologiei tropicale;

Bordetella pertussis, înalt patogen şi epidemigen, este agentul tusei convulsive, boală tot mai rară datorită vaccinării anti*pertussis*;

Calymmatobacterium granulomatis determină *granuloma inguinale*, infecţie transmisă sexual, importantă în patologia tropicală;

Cardiobacterium hominis, comensal al TRS, este un accidental patogen întîlnit rareori în e. b. s.;

Brucella, *Francisella* şi *Pasteurella* cuprind specii epizootogene, care contaminează accidental omul, dînd boli grave, septicemice, mai frecventă la om fiind bruceloza.

A. GENUL HAEMOPHILUS

> „Un studiu a arătat că printre copiii care supraviețuiesc meningitelor cauzate de *Haemophilus influenzae*, 6,5% rămîn permanent dependenți, 28,3% rămîn cu sechele neurologice și alți 14% dau rezultate slabe la școală, ca o consecință probabilă a infecției" (*T. Cooper*, J. Inf. Dis., *134*, 5, 510, 1976).
>
> Vaccinarea anti-H. influenzae este un deziderat al medicinii moderne.

Genul *Haemophilus* include cocobacili gram-negativi, facultativ anaerobi, strict comensali, cu specii condiționat sau accidental patogene, dependenți de unul sau doi factori de creștere prezenți în globulele roșii (de unde și numele *haemo-philus*) :

factorul X (hemina, feroprotoporfirină), component termostabil și

factorul V sau NAD (nicotin-adenin-dinucleotid) termolabil și repede distrus de enzimele derivate din globulele neîncălzite de om și oaie.

Factorii X și V pot fi eliberați din globulele roșii (de oaie, cal, iepure, om), fie prin digestie peptică, fie prin încălzire (4 min. la 90°C sau 20 min. la 55°C) ; factorul V poate fi furnizat și de unele levuri și bacterii, ca *S. aureus*. Ca urmare, speciile *Haemophilus* cresc bine pe medii speciale cu factorii X și V, tip geloză-*chocolat*, și nu cresc deloc sau foarte slab pe geloză cu sînge proaspăt.

Toate speciile necesită, pentru inițierea cultivării, incubare în aerobioză cu 5—10% CO_2 (în vas cu lumînare) și nu cresc deloc sau foarte greu în incubare aerobă (fără concentrație crescută de CO_2).

Tabelul 47

Specii *Haemophilus*, comensali ai mucoaselor normale la om ; caractere diferențiale

		comensal al mucoasei	factori de creștere necesari *		hemoliză	catalază
			X	V		
H. influenzae		TRS	+	+	—	+
H. haemolyticus		TRS	+	+	+	+
H. parainfluenzae		TRS	—	+	—	+
H. parahaemolyticus		TRS	—	+	+	+
H. aphrophilus		TRS	+	—	—	(+)
H. paraphrophilus		colon	—	+	—	+
H. paraphrahaemolyticus		gură, uretră ant.	—	+	+	?
H. ducreyi		genitală	+	—	+	?
Specii cu încadrare incertă, provizorie	*H. aegypticus*	conjunctivă	+	+	—	?
	H. vaginalis	genitală	—	—	+	—

* Pentru diagnostic diferențial, factorii de creștere sînt furnizați de firme ca OXOID și BBL : discuri X, V și XV.

Specii *Haemophilus* cu virulență redusă:

H. haemolyticus, *H. parahaemolyticus*, *H. parainfluenzae*, comensali ai TRS, pot da un număr de faringite mai ales la copii; primii doi pot fi confundați în tamponul faringian însămînțat pe geloză-sînge (de iepure, cal, om) cu streptococii β-hemolitici; *H. aphrophilus*, *H. paraphrohaemolyticus*, sînt comensali ai TRS; *H. paraphrophilus* este comensal al colonului; toate aceste specii au fost rareori menționate în endocardite bacteriene subacute.

H. aegypticus (numit și *H. conjunctivalis* sau bacilul lui *Koch* și *Weeks*) este agentul unei conjunctivite contagioase, cu evoluție acută, frecventă în zone calde; specie importantă pentru patologia tropicală.

1. HAEMOPHILUS INFLUENZAE

H. influenzae este specia tip a genului; este comensal, în număr redus al mucoasei TRS, prezent la aproximativ 30% din indivizii sănătoși; este un condiționat patogen cu mari posibilități de infectare la copil.

Morfologie: cocobacil de 0,2—0,3/0,5—2 μm, adesea pleomorf, cu forme filamentoase, capsulat.

Vitalitate: moare în 30 min. la 55°C; este omorît repede de UV, uscăciune și antiseptice ușoare.

Cultivare: necesită medii cu factorii X și V, furnizați de eritrocite lizate, fie prin căldură (în 4 min. la 90°C sau 20 min. la 55°C, ca în mediul *chocolat*, opac, sau în mediul Levinthal, transparent), fie prin digestie peptică (mediul Fildes); *p*H = 7,6; creșterea este optimă numai în incubare în vas cu lumînare. Coloniile sînt iridiscente în primele 24 ore, apoi se degradează.

Structura antigenică

Antigene de specificitate: *H. influenzae* posedă o proteină cu *specificitate de specie* și poliozide cu *specificitate de tip*, care împart specia în 6 serotipuri numite a, b, c, d, e, f; specia și serotipul pot fi identificate prin test de imunofluorescență, aglutinare, umflarea capsulei, precipitare, bacterioliza. A fost constatată, pe baza reacțiilor serologice încrucișate, existența de antigene sau haptene comune între *H. influenzae* serotip b și *S. pneumoniae* serotipuri 6, 15, 29, 35.

Antigene și factori de patogenitate. *H. influenzae* este o bacterie virulentă și sensibilizantă:

— *factorul de virulență*, antifagocitar, este reprezentat de poliozidul capsular responsabil de pătrunderea în țesuturi, inflamația acută importantă și supurația cu PN, imunoglobulinele specifice funcționînd ca anticorpi protectori; serotipul b s-a demonstrat cel mai virulent, el dă 95% din infecțiile grave și invazive ale copilului (epiglotita, bacteriemia, meningita);

Whianant și *Mann* (1971) explică invazivitatea mai mare a serotipului-b pentru unii copii, nu numai prin absența Ig omologe, a imunizării, ci și printr-o relație de specificitate între structura de suprafață a celulelor-gazdă, genetic determinată și capsula de tip-b reprezentată de o poliriboză-fosfat.

— *factorul de sensibilizare* este reprezentat de lipopolizaharidul de perete, care dă aceleași reacții patologice ca și „endotoxinele" bacililor gram-negativ (cap. XXV). *Mc. Cracken* și *Sarff* au pus în evidență „endotoxină" prin testul cu extract *Limulus* în 62 din 63 LCR de la copii cu meningite date de *H. influenzae*.

Variația S-R este frecventă la serotipurile *Haemophilus*, atît *in vitro* cît și *in vivo* : tulpinile R, necapsulate, nu pot fi tipate serologic ; pot da însă e. b. s. (mecanism descris în cap. XXII B) și sînt prezente ca bacterii de asociere (se înmulțesc) în supurații bronhopulmonare date de alte specii.

Infecții. *H. influenzae* a fost izolat de *Pfeiffer* în 1882, în cursul marii pandemii de gripă și considerat un timp agentul etiologic al gripei sau *influenza* (boală cauzată de un virus) de unde și numele de bacilul lui *Pfeiffer* sau *H. influenzae*.

H. influenzae este un comensal frecvent al mucoasei TRS (rata portajului la copii este în medie de 30%, atît tulpini capsulate cît și necapsulate ; dintre tulpinile capsulate, 80% sînt de tip-*b*). Este un condiționat patogen care dă numeroase infecții inaparente și aparente la copilul neimunizat, cu practic orice localizare. La bătrîni, dă mai ales pneumonii și bronhopneumonii. Toate infecțiile sînt imunizante și nivelul Ig anti-*H. influenzae* crește odată cu vîrsta ; imunitatea este de tip umoral încît IgG transplancentare sînt foarte eficiente ; ca urmare, pînă la 2—3 luni, sugarii sînt eficient protejați (fig. 92).

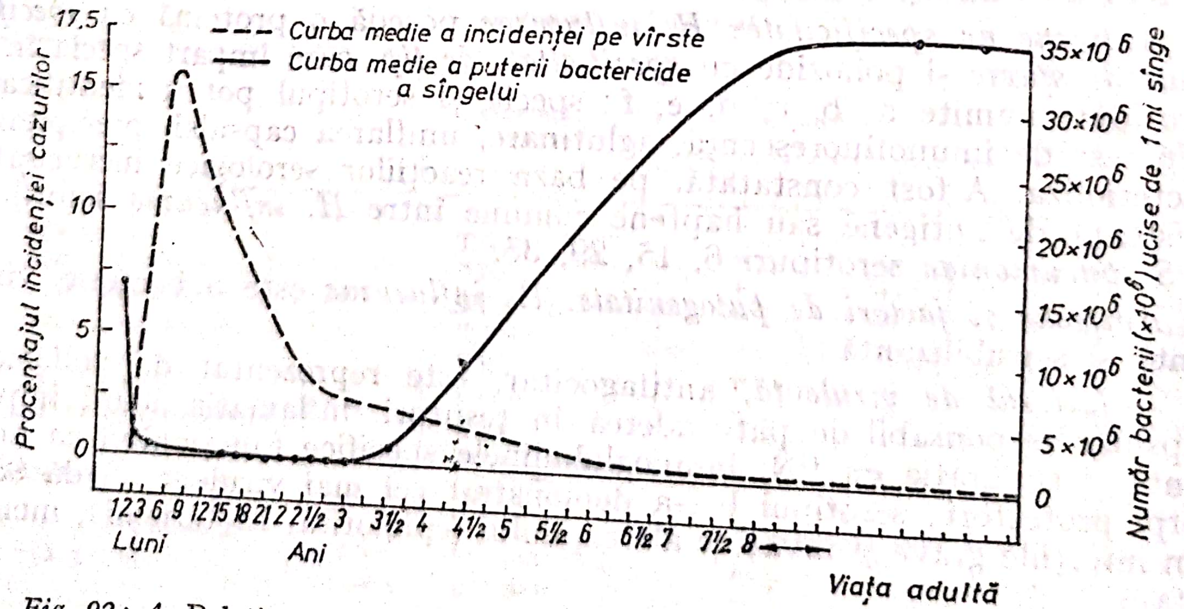


Fig. 92 : A. Relația între incidența pe vîrste a meningitei cu *H. influenzae* și titrul anticorpilor bactericizi în sînge (reprodus din *Davis, Dulbecco, Eisen, Ginsberg, Wood, Microbiology,* 1970).

Fig. 92. *B.* Corelația cauzei meningitei acute bacteriene cu grupa de vîrstă și contaminarea directă (*Hoeprich, „Infectious Diseases"*, 1972).

	prematuri și nou născuți (%)	2 luni — 5 ani (%)	5 ani — 40 ani (%)	>40 ani (%)	extindere din focare intra-craniene (%)	fracturi craniene (%)	Plăgi perforante (%)
N. meningitidis	—	~ 25(~ 10)	~ 45(~ 5)	~ 10 (~ 25)			
N. influenzae	—	~ 50 (~ 5)	~ 5 (~ 0)	~ 2 (~ 0)	~ 25 (~ 5)	~ 10 (~ 5)	
E. coli	~ 35 (~ 70)*	—	—	ocazional	ocazional	ocazional	ocazional
Alte Enterobacteriaceae	~ 20 (~ 60)	—	—				
P. aeruginosa	~ 7 (~ 100)	—	—				
S. pneumoniae	~ 10 (~ 50)	~ 12 (~ 10)	~ 20 (~ 30)	~ 50 (~ 45)	~ 40 (~ 15)	~ 80 (~ 10)	
Staphylococcus sp.	~ 10 (~ 60)	—	~ 10 (~ 50)	~ 13 (~ 40)	~ 10 (~ 25)	ocazional	~ 80 (~ 25)
Streptococcus sp.	~ 8 (~ 30)	~ 3 (~ 25)	~ 5 (~ 40)	~ 5 (~ 45)	ocazional	ocazional	~ 5
Alte bacterii	~ 10 (~ 25)	~ 10 (~ 2)	~ 10 (~ 15)	~ 10 (~ 50)	~ 20 (~ 15)	~ 5 (~ 25)	~ 10 (~ 25)

* Rata de letalitate aproximativă cu terapia actuală, între paranteze.

La copil, infecțiile cu *Haemophilus* încep după 2—3 luni, cînd titrul Ig transplacentare devine tot mai redus, iar imunizarea proprie încă nu s-a instalat, incidența mare (1 la 1500) are loc la copil, de la 2—6 luni pînă la 2—3 ani. Cele mai frecvente sînt infecțiile TRS și TRI, de la faringite, sinuzite, otite, pînă la bronhopneumonii și pneumonii însoțite deseori de bacteriemii. Tot în această perioadă au loc și infecțiile foarte grave cu mortalitate ridicată, *epiglotita* (crup sau edem supraglotic), *laringotraheobronșita* și *meningita*, determinate aproape în totalitate de *serotipul-b*. În prezent, cînd vaccinarea antidifterică a suprimat crupul difteric, acest sindrom este dat cel mai adesea de *H. influenzae* tip-b; după 6 ani, este foarte rar, a fost descris totuși și la 20 de ani.

Dintre localizările secundare, cea mai gravă este meningita; *H. influenzae tip-b* dă cam 50% din toate meningitele copilului între 2 luni — 5 ani, și numai 2—5% din meningitele care au loc după această vîrstă (fig. 92).

Cam 50% din meningite și epiglotite sînt însoțite de bacteriemii.

La adult, infecțiile invazive sînt rare; *H. influenzae* determină însă un procent din infecțiile mucoaselor conectate TRS (otite medii, sinuzite) și complicații postvirale la nivelul TRI (favorizate de selectarea bacteriei prin tratamente prelungite cu peniciline de biosinteză și macrolide). În infecții mixte, se asociază și tulpini necapsulate (tabel 48).

La toate vîrstele sînt descrise osteomietite și endocardite.

Infecțiile cu *H. influenzae* se însoțesc de inflamații acute și supurații cu PN (caracteristic bacteriilor virulente cu înmulțire extracelulară, în general).

Infecția experimentală: meningite și bronhopneumonii au putut fi obținute numai la maimuțe; înglobate în mucină, tulpini capsulate au reprodus peritonita mortală la șoarece.

Tabelul 48

Infecții date de *H. influenzae* la copil

- *Infecții la poarta de intrare*, mucoasa TRS
  - **epiglotite obstructive**
  - faringite
- *Invazii prin contiguitate* la
  - mucoasele conecte TRS
    - otite medii
    - sinuzite maxilare
  - TRI
    - traheobronșite
    - bronșiolite
    - bronhopneumonii
    - pneumonii (empiem pleural)
  - conjunctivite

(Înmulțirea bacteriei în mucoase, invazia bronșiolelor și alveolelor determină răspuns inflamator acut cu edem și exsudat important, bogat în PN și bacterii, permițînd punerea lor în evidență în frotiu și în cultură.)

- *Bacteriemii*
  - f. frecvente mai ales în epiglotite, meningite
  - însoțesc 1/3 din infecțiile bronhopulmonare
- *Localizări secundare*
  - **meningite**
  - artrite (de obicei unică)
  - osteomielite
  - endocardite

Imunitatea *este specifică de serotip.*

Diagnosticul etiologic.

În *meningite* se recoltează, LCR pentru frotiuri și însămînțări, și sînge pentru hemoculturi:

în *frotiul din sediment de LCR*, colorat Gram, predomină PN și sînt prezenți cocobacili gram-negativ (fig. 93); o identificare rapidă este posibilă serologic, cu ser polivalent anti-*H. influenzae*, specific de specie, sau cu seruri specifice de tip*, prin test de umflare a capsulei, sau test direct de imunofluorescență;

însămînțările se fac extemporaneu, pe geloză chocolat; o identificare serologică rapidă este posibilă (prin aceleași teste) în culturi de 4—8 ore pe mediu solid sau lichid (după 24 ore de incubare, capsulele dispar și identificarea serologică devine dificilă); în meningite, culturile din LCR sînt pozitive în procent foarte mare, iar hemoculturile în aprox. 50% din cazuri.

Aceleași metode permit diagnostic în localizări la nivelul altor seroase (articulare, pleurale, cel mai frecvent) și alte localizări profunde (tabel 48).

În infecții ale TRS se recoltează *tampon nazofaringian* (din *cavum*), în epiglotite *tampon laringian*, în infecțiile TRI, *sputa*:

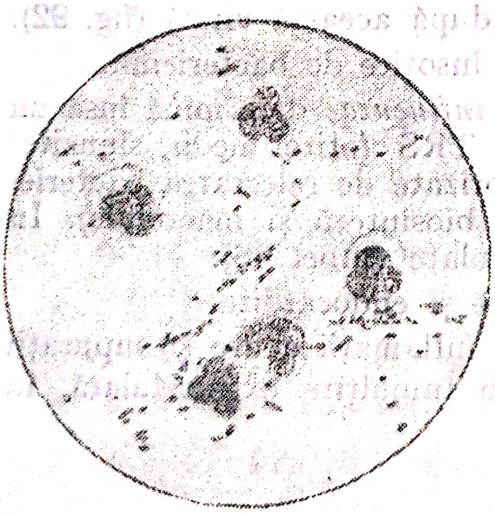


Fig. 93: H. influenzae, frotiu din sediment l.c.r.

---

* *Majoritatea meningitelor cu H. influenzae sînt date de tipul b; serul de diagnostic anti-H. influenzae tip b este o mare necesitate pentru laboratorul clinic.*

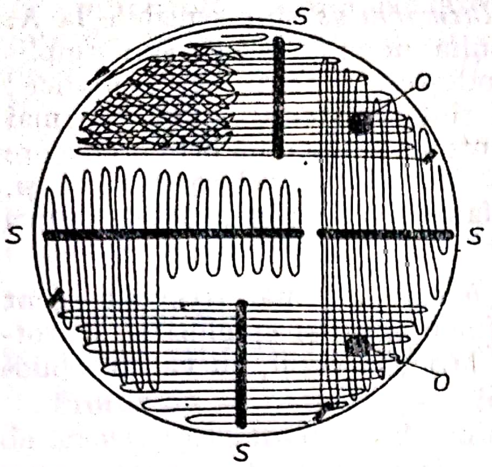


Fig. 94: Metoda diluării progresive a produsului patologic, în placă, pe geloză cu sînge de cal (sau iepure):
S=poziția striurilor de stafilococ pentru izolarea și identificarea *H. influenzae*. O=zonele de aplicare a rondelelor cu optochim pentru identificarea pneumococului (*D Buiuc* și *L. Duca*).

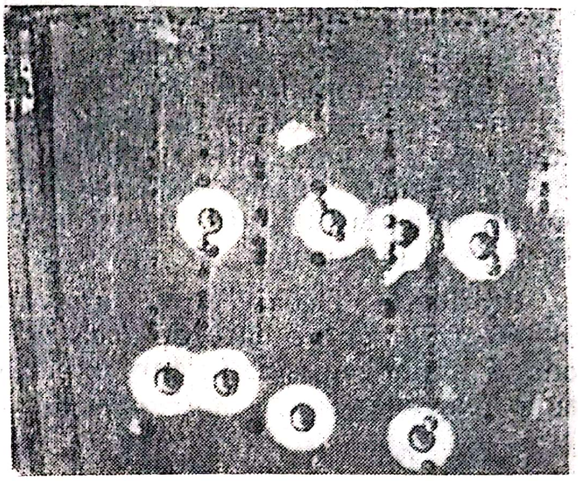


Fig. 95: Fenomenul de satelitism: coloniile de *H. influenzae* sînt mai mari în apropierea coloniilor de *S. aureus* (*Topley and Wilson's Princ. of Bact. and Immunol.*, 1955).

În frotiuri din exsudate și spută de la bolnav cu infecție prin *Haemophilus*, cocobacilii gram-negativ capsulați sînt prezenți în număr mare.

Însămînțările se fac pe placi încălzite, cu geloză-sînge de cal sau iepure, în prezența *S. aureus* și/sau medii cu eritrocite lizate, prin metoda diluării progresive (fig. 79); și incubare în vas cu lumînare. Identificarea rapidă a coloniilor de *Haemophilus* (tabel 47) este posibilă prin însămînțarea concomitentă a *S. aureus*, în striuri (fig. 94), pentru evidențierea creșterii satelite (fig. 95)*. Implicarea etiologică este posibilă numai pe baza însămînțării și interpretării semicantitative (la sănătoși, bacteria fiind prezentă în număr redus); de aceea, în toate cazurile se practică și hemocultura (bacteriemia este foarte frecventă în epiglotite și însoțește pînă la 33% din bronhopneumonii); hemocultura pozitivă pune diagnosticul etiologic al sindromului bronho-pulmonar (cînd sputocultura nu a putut fi interpretată).

Identificarea speciilor izolate se face biochimic (tabel 47) și serologic; *identificarea tipurilor* de *H. influenzae* este serologică.

Diferențierea speciilor hemolitice — nehemolitice se face prin însămînțare, în paralel, pe mediu optim (transparent, cu factori X și V) și sînge proaspăt:

speciile nehemolitice (*H. influenzae, parainfluenzae, vaginalis*) dau în 24 de ore pe mediu chocolat, colonii S de 1 mm Ø, iridiscente, cînd aparțin tulpinilor capsulate, și cresc slab sau deloc pe geloză cu sînge proaspăt;

speciile hemolitice dau colonii mai mari, 1—3 mm Ø pe mediu chocolat și colonii cu hemoliză în jur pe mediu cu sînge proaspăt.

---

* Dr. *D. Buiuc* folosește constant tehnica, confirmînd rezultatele satisfăcătoare în izolarea *H. influenzae* (comunicare personală).

Sensibilitatea la A. și terapie. Speciile *Haemophilus* sînt sensibile la A. cu spectru larg (tabel 19), la polimixine și sulfamide; de elecție sînt ampicilina și cloramfenicolul. *H. infleunzae* dobîndește rezistență la antibiotice; în unele regiuni, cel puțin 10% din tulpini sînt rezistente la unul sau mai multe A.; au fost găsite tulpini tip-*b* rezistente la ampicilină prin producere de β-lactamază (CMI = 20 μg/ml — CMC = 40 μg/ml), cloramfenicol și, uneori, pînă la 50% R la trimetoprim și sulfametoxazol; în astfel de cazuri se preferă T, sau S.

Profilaxie. Deoarece *H. influenzae* tip *b* este cel mai frecvent agent al infecțiilor grave date de această specie (meningite și epiglotite) și, totodată, imunogen, sînt în curs experimentări largi, la copil, cu vaccin poliozidic (capsular).

2. HAEMOPHILUS DUCREYI

H. ducreyi este agentul etiologic al șancrului moale*, cea de a 3-a boală venerică. Este o bacterie strict parazită, prezentă numai în leziuni la omul infectat (de unde a fost izolat în 1890 de *Auguste Ducrey*).

Bacteria transmisă prin contaminare sexuală, colonizează mici escoriații existente ale mucoasei și mai ales tegumentelor regiunii genitale, determinînd una sau mai multe ulcerații superficiale dureroase, însoțite de adenopatie regională, care la rîndul ei poate ajunge la supurație și fistulizare. Aceste leziuni se pot supracontamina, adesea cu asociații fusospirochetice. (Leziuni extragenitale de autoinoculare, prin mîini murdare și unghii, pot fi întîlnite).

La femeie, infecția poate evolua și ca vaginită ușoară, uneori aproape asimptomatică; gravă este prinderea ggl. perineali și perirectali.

Boala este rară în regiunile temperate, mai frecventă în cele calde, problemă a patologiei tropicale. Datorită măsurilor de igienă individuală tot mai riguroase și a marii sensibilități a bacteriei la toate antisepticele și la antibiotice, infecția este, în general, tot mai rară (*P. Morel* descrie 55 cazuri noi în 1973 la Paris).

Diagnosticul este clinic, confirmat de laborator.

Diagnosticul bacteriologic. După spălarea ulcerației cu SF și tamponare cu hîrtie de filtru sterilă, se comprimă marginile leziunii și se recoltează exsudat cu pipeta sau ansa; se fac frotiuri și însămînțări pe un mediu favorabil (geloză-chocolat: geloză cu 20—30% sînge defibrinat de iepure, proaspăt recoltat și încălzit). Recolorarea frotiului trebuie să dureze 20—30 min. deoarece *H. ducreyi* prinde greu colorantul; se văd cocobacili gram-negativ intra- și extracelular, de 0,6/1—1,5 μm, colorați bipolar, în scurte lanțuri și în mici grămezi. Este posibilă identificarea în frotiu cu AF, prin test direct de imunofluorescență.

Mediile însămînțate sînt imediat incubate în vas cu lumînare la 37°C; cresc în 1—2 zile dînd colonii mici, S, translucide, izolate. În apa de condensare a mediilor solide (mai ales) formează lanțuri lungi, (datorită colorației bipolare apar ca „lanțuri de bicicletă" încîlcite); identificarea (tabel 47). Uneori aceste metode nu dau rezultate pozitive din cauza supracontaminării ; se recurge la autoinoculare (metodă foarte fidelă) : exsudat din șancru este depus pe o mică scarificare pe pielea antebrațului la bolnav ; în 48 ore apar mici vezicule în care *H. ducreyi* este prezent în cultură pură, putînd fi izolat, colorat.

---

* Spre deosebire de șancrul tare, leziunea primară din sifilis.

Diagnosticul imunobiologic prin i. d. r. este tardiv (se pozitivează la 2—5 săptămîni de la debutul infecției) : se injectează i. d. 0,1 ml suspensie sau extract de *H. ducreyi* ; o reacție de sensibilizare de tip întîrziat (papulă de 4—6 mm Ø) apare după două zile.

Sensibilitatea la antibiotice este aceea caracteristică genului ; de elecție în terapie este sulfametoxazol-trimetoprim.

Profilaxia se bazează pe educație sanitară privind măsurile elementare de igienă, (principală fiind toaleta intimă cu apă și săpun înainte și după raport sexual ; v. gonoreea).

3. HAEMOPHILUS VAGINALIS

H. vaginalis este un comensal al mucoasei genitale. Poziția lui în cadrul genului este provizorie deoarece nu corespunde definiției *haemo-philus* (se pare că nu necesită factorii X, V ci un factor de creștere prezent în stroma globulară) ; se așază în perechi cap la cap, dar formează și unghiuri ascuțite și chiar palisade (aranjament caracteristic speciilor *Corynebacterrium*, numit și *C. vaginalis*), fiind gram-variabili (bacteriile tinere rețin Gram-ul). Structura peretelui ar fi de tip gram-pozitiv, ca și sensibilitatea la A. : sensibil la peniciline de biosinteză, macrolide, bacitracină, ca și la antibiotice cu spectru larg. Este heterogen din punct de vedere antigenic.

Pe mucoasa vaginală normală este prezent în număr mic ; este unul din agenții vaginitelor purulente cu transmitere sexuală (MTS minore). Pentru diagnostic este patognomonic prezența în frotiul de puroi a numeroase celule epiteliale pe suprafața cărora aderă (?) mase de cocobacili gram-negativ, de 0,3—0,6/1—2 μm (fig. 96), în paralel cu lipsa gonococului și a altui agent al vaginitelor (*Trichomonas vaginalis, Candida albicans*).

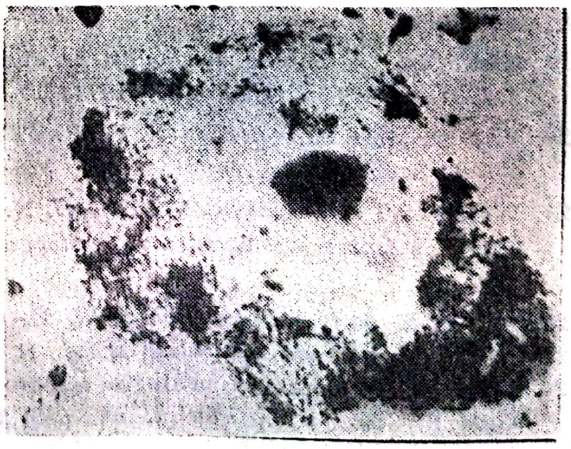


Fig. 96: O așa-numită *clue-cell* : celulă epitelială cu o multitudine de cocobacili gram-negativ, *Haemophilus vaginalis*, atașați. (din *P.D. Hoeprich* Edit., „Infectious Diseases", 1972).

BIBLIOGRAFIE

1. ADDY M. G., ELLIS P. D. M., TURK D. C. : *Haemophilus* epiglotitis : nine recent cases in Oxford. *Brit. Med. J.*, 5 741, p. 180, 1972.
2. AUTRAN P., GEVANDAN M. J., ARAUD A., et all. : *Haemophilus influenzae* en pathologie respiratoire. *Marseille Méd.*, 109/6, 409—412, 1972 (rez. E. M. VI, 1973, 28—2 222).
3. BURCOVEANU C. : Rolul *H. influenzae* in exacerbările acute ale bronşitei cronice. Rez. lucrărilor celui de al II-lea Congr. Nat. Microbiol. Med., Bucureşti, sept. 1971, p. 28.
4. BURCOVEANU C., TEODOROVICI GR. : Incidenţa *H. influenzae* în sputele bolnavilor cu bronşită cronică. *Rev. Med. Chirurg.*, Iaşi, *1*, 12 127—132, 1971.
5. EYKYN J. S., THOMAS R. D., PHILLIPS I. : *H. influenzae* meningitis in adults. *Brit, Med. J.*, 2, 463—465, 1974.
6. FARARR W. E., O'DELL N. M. : Beta-lactamase activity in ampicillin-resistant *H. influenzae. Antimicrob. Ag. Chemother.*, 6, 5, p; 625, 1974.
7. GOLDACRE M. J. : Acute bacterial meningitis in childhood. *Lancet*, *3*, 1 076, p. 28, 1976.
8. GRANOFF D. M., MANKERVIS G. A. : Infectious artheritis in the neonate caused by *H. influenzae. Am. J. Dis. Child.*, 6, p. 730, 1975.
9. HABLE K. A., LOGAN C. B., WASHIGTON J. A. : Three *Haemophilus* species pathogenic activity. *Am. J. Dis. Child.*, *121*, 1, 35—37, 1971.
10. HERNOTT R. H., MEYER E. Y., VOGT N., MODEN N. : Defined medium for growth of *H. influenzae. J. Bacteriol.*, *101*, 2, 513—516, 1970.
11. JOGGENSEN J. H., LEL J. C. : Microdilution technique for antimicrobial susceptibility testing of *H. influenzae. Antimicrob. Ag. Chemother.* 8, 5, p. 610, 1975.
12. McCRACKEN G. H., LARRIE D., SARFF : L. D. : Endotoxin in cerebrospinal fluid *J.A.M.A*, *235*, 6, 617—620, 1976.
13. MEDEIROS A. A., O'BRIEN T. F. : Ampicillin-resistant *H. influenzae* type B possesing a tem-typeβ-lactamase but little permeability barrier to ampicillin. *Lancet*, 7 909, 716—717, 1975.
14. MAY J. R., DAVIES J. : Resistance *H. influenzae* to trimethoprim + sulphametoxazol. *Brit. Med., J*; 12, 376—377, 1972.
15. MINNEFOR A. G., MURRAY YJ., DAVIS P. H. : *H. influenzae* cellulitis of the lower extremity. *Am. J. Dis. Child.*, *124*, 6, 1972.
16. MOREL P. : Le chancre mou. A propos de 55 nouvelles observations. *Nouv. Presse Méd.*, 3, 2 104—2 106, 1974.
17. NORDEN C. W., MICHAELS R. : Immunologic response in patients with epiglotitis caused by *H. influenzae* type b. *J. Infect. Dis.*, 128, 6, p. 777, 1973.
18. NORDEN C. W., MICHAELS R., MELISH M. : Serologic responses of children with meningitis. *J. Infect. Dis.*, *134*, 5, 495—499, 1976.
19. NELSON J. : Should ampicillin be abandoned for treatment of *H. influenzae* disease? *J.A.M.A*, *229*, 3, 322—325, 1974.
20. VAN DAMME L., VAN DYÇK E., PATTYN S. R. : Isolement et identification des *Haemophilus. Méd. Malad. Infect.*, 5, 11, 326—328, 1975.
21. WIISNANT J. K., ROGENTINE G. N., MANN D. L., ROBBINS J. B. : Human cell-surface structures related to *H. influenzae* type b disease. *Lancet*, october 23, 895—897, 1971.
22. * * * : *H. influenzae* infections. W. H. O. *Wkly Epidem. Rec.*, nr. 40, p. 342, 1975.
23. * * * : *H. influenzae* meningitis. W. H. O. *Wkly Epidem. Rec.*, nr. 21, 1974.
24. * * * : Lutte contre la meningite cérébro-spinale. Rapport d'un groupe d'etude de l'OMS. O. M. S., Sér. Rapp. techn. nr. 588, 25—26, 1976.

B. GENUL BORDETELLA

Bordetella include speciile *B. pertussis*, specia tip a genului, *B. parapertussis* şi *B. bronchiseptica* (tabel 49).

B. pertussis a fost izolată în 1906, la Bruxelles, de *Bordet* şi *Gengou* din sputa unui copil cu tuse convulsivă. Demonstrarea rolului etiologic a fost făcută de soţii *Mac Donald* (1933), care au badijonat farinxul propriilor copii cu bacili *Bordet-Gengou*, proaspăt izolaţi, obţinînd tusea convulsivă tipică, după o incubaţie de 8 zile.

Morfologie. Cocobacili ovalari, 0,2—0,3/0,5—1,0 μm, aşezaţi cîte unul, în perechi, mai rar în scurte lanţuri; în faza *smooth*(S), *B. pertussis* posedă capsulă care poate fi pusă în evidenţă prin coloraţii speciale (nu dă reacţie de umflare a capsulei cu serul imun omolog); gram-negativ, colorîndu-se bipolar.

Cultivare. La izolarea de la bolnav, *B. pertussis* creşte încet, în 3—4 zile, numai pe medii complexe ca mediul Bordet-Gengou (geloză pe bază de infuzie glicerinată de cartof cu 33% sînge de iepure, oaie sau cal). (Spre deosebire de *Haemophilus*, sîngele este necesar nu ca sursă de factori de creştere, ci ca factor de neutralizare, adsorbţie a unor inhibitori ai creşterii, acizi graşi nesaturaţi, toxici din mediu; sîngele poate fi înlocuit cu cărbune vegetal sau amidon). Rezultate bune la izolare pot fi obţinute prin însămînţare pe geloză cu 15% sînge. În faza S, coloniile de *B. pertussis* au maximum 1 mm Ø, convexe, aproape transparente, cu luciu metalic (perlate, picături de mercur); variaţia S-R este practic constantă.

Celelalte două specii cresc şi pe medii simple, şi mai repede; coloniile sînt mai mari, mai puţin transparente. Toate se înconjură de zonă de hemoliză.

Biochimic. Puţin active biochimic, nu fermentează glucide, nu lichefiază gelatina, nu produc indol, acetilmetilcarbinol, H_2S; alcalinizează mediile (lapte turnesolat); catalază—pozitiv. Caractere diferenţiale ale speciilor în tabelul 49.

Tabelul 49

Caractere diferenţiale ale speciilor din genul *Bordetella*

	B. pertussis	B. parapertussis	B. bronchiseptica
Cili, mobilitate	−	−	+
Creştere pe geloză peptonată	−	+	+
Creştere pe mediul Bordet-Gengou în 1—2 zile	−	+	+
Creştere pe mediul Bordet-Gengou în 3—4 zile	+		
Nitrat — nitriţi	−	−	+
Utilizarea citratului ca unică sursă de C	−	+	+
Producere de urează	−	+	+
Alcalinizarea laptelui turnesolat			
în 1—4 zile	−	+	+
în 12—14 zile	+		

(După Bergey's Manual, ed. a 8-a, 1974; simplificat).

Vitalitate: la temp. camerei *B. pertussis* moare în 1—2 ore, moare mai repede la lumină, UV; rezistă mai mult la temp. scăzute (0—10°C). Rezistă pînă la o lună în frigider; este omorît în 30 min. la 55° căldură umedă; conservare prin liofilizare.

Habitat. *B. pertussis* și *parapertussis* sînt prezente numai pe mucoasa traheo-bronșică la om; *B. bronchiseptica*, prezentă la unele animale (cîine, pisică, iepure, cobai, porc, șobolan), contaminează accidental omul putînd da infecție ușoară asemănătoare tusei convulsive.

Structură antigenică

(i) **Antigene de specificitate** (tabel 50). Se cunosc 14 aglutinogene, structuri de suprafață, necaracterizate bine chimic: fiecare dintre cele trei specii posedă un *f. specific de specie* (în baza căruia, tulpini proaspăt izolate din organism pot fi identificate cu cele 3 seruri omologe-adsorbite, prin reacții de aglutinare sau R. F. C.); un *factor este specific de gen*; la *B. pertussis* s-au pus în evidență și *factori cu specificități de serotip* (astfel, numai pe baza factorilor 1, 2 și 3, specia este subîmpărțită în 3 serotipuri: 1, 2; 1, 2, 3 și 1, 3; importanță epidemiologică). Speciile *B. parapertussis* și *bronchiseptica* au și alți factori comuni (tabel 50).

La *B. pertussis* este foarte caracteristică rapiditatea cu care are loc variația S-R cu pierderea treptată a acestor factori de suprafață, odată cu virulența (după maximum 25 treceri pe medii de laborator).

(ii) **Factori de patogenitate.** Aceste specii sînt virulente și sensibilizante probabil, slab toxigene.

Factorul de virulență antifagocitar la *B. pertussis* este identificat cu capsula, corespunzînd aglutinogenelor termolabile 1, 2, 3 și 4 (numite și f.K = factori capsulari):

— prezente numai la tulpini proaspăt izolate din organism (culturi de 48—72 ore) în faza *smooth*, dispar odată cu degradarea S-R și cu infectivitatea pentru șoarece în inoculare intracerebrală (i. c.); în faza R, acapsulată, tulpinile sînt avirulente;

— serurile omologe au valoare protectoare în inocularea de probă i. c. la șoarece.

Virulența pentru animale de laborator este slabă (infecții au fost reproduse la cimpanzeu, cîine, iepure, șobolan, dihor, șoarece, embrion de găină, pe diferite căi; cea mai ușor reproductibilă este infecția la șoarece prin inoculare i. c., folosită curent pentru cercetarea valorii protectoare a vaccinurilor anti*pertussis*).

Tabelul 50

Factori antigenici la speciile ***Bordetella***

	f. specific de specie	f. cu specificități de serotip	factori comuni		„endotoxină"
			specific de gen	comuni numai unor specii	
B. pertussis	1	2, 3, 4, 5, 6	7	—	+
B. parapertussis	14	—	7	8, 9, 10	+
B. bronchiseptica	12	11	7	8, 9, 10	+

(După Lennette, Spauling, Truant, 1974, cu completări).

B. parapertussis, lipsită de factorii 1, 2, 3, 4, are virulență mult mai redusă.

Factorul de sensibilizare, prezent atît la varianta S cît și R, este identificat cu lipopolizaharidul (LPS) de perete, comun la toate speciile, reproduce toate fenomenele biologice ce caracterizează ,,endotoxinele'' bacteriilor gram-negativ (v. cap. XX). Prezența LPS explică : (i) reacțiile inflamatorii și dermonecrotice vaccinale (așa-numitele vaccinuri reactogene), care dispar prin delipidarea vaccinului ; (ii) necroza mucoasei și tusea spasmodică în tusea convulsivă la copii mai mari, sensibilizați ; (iii) leziunile și tusea, similare, obținute prin inoculare pe mucoasa traheală la animale de experiență.

Nu reiese clar din datele actuale dacă *toxina* dermonecrotică, descrisă adesea, este un factor independent de ,,endotoxină'' deoarece este obținută prin liză celulară atît din tulpini S cît și R.

Tusea convulsivă, infecție și boală de sensibilizare.

B. pertussis, bacterie foarte virulentă, dă o boală a tractusului respirator cu repercursiuni generale, caracterizată prin tusea severă, de unde și numele (*per* = sever) ; foarte epidemigenă (într-o populație infantilă neimunizată, 100% din copii fac infecții și 75—90% fac boli manifeste) ; este boala infecto-contagioasă bacteriană cu cea mai mare mortalitate în primul an de viață ; tot mai rară în prezent datorită vaccinării generalizate.

B. parapertussis determină un sindrom asemănător (*para*), mai puțin sever și epidemigen, 3—4% din infectați fac boală clinică ; (în unele regiuni dă 22% din sindroamele de tuse convulsivă, *Linnemann*, 1977).

Receptivitatea maximă aparține sugarilor neimunizați (la care titrul IgG transplacentar este redus, insuficient pentru a apăra mucoasele) și nevaccinaților.

Evoluția bolii are loc în 3 stadii de cîte 2—3 săptămîni :

(i) *stadiul cataral*, explicat prin specificitatea de aderență a bacteriei la epiteliul ciliat traheobronșic și rezistența la fagocitoză, ceea ce îi permite o înmulțire foarte mare, cu reacție inflamatorie violentă din partea organismului ; se traduce prin exsudat mucos abundent încărcat cu bacterii, strănut, tuse ; este stadiul cel mai contagios și în care izolarea bacteriei este posibilă în procente mari ; clinic este greu de diferențiat de alte infecții ale TRS ;

(ii) *stadiul de tuse paroxistică* (măgărească, care se termină cu un inspir forțat) ; poate fi explicat ca fenomen de sensibilizare la ,,endotoxină'' ; în timpul perioadei catarale are loc apariție de Ig opsonizanți și Lss, care mediază bacterioliză și, astfel, eliberare mare de ,,endotoxină'' ; fenomenul local ar fi determinat, fie prin reacție tip Arthus, fie tip celular întîrziat, fie combinat, cu *eliminarea mucoasei încărcată cu antigen*, prin necroză (fig. 77). Acest mecanism este sugerat de numeroase fapte experimentale și clinice :

— componenta celulară a leziunilor traheobronșice în care domină infiltratul limfo-plasmocitar peribronhovascular ; alveolită catarală histiomacrofagică și prezența de celule gigante ;

— leucocitoză cu limfocitoză sanguină, 70—80% ;

— pozitivarea i.d.r. tip întîrziat din a 3—4-a săpt. de boală ;

— ineficiența terapiei cu antibiotice și a seroterapiei în această etapă ;

— reacții caracteristice ,,endotoxinelor'' după vaccinare.

Oricare ar fi mecanismul de producere al leziunilor, odată apărute, ele permit iritarea directă a terminațiilor nervoase declanșînd reflexul de tuse spasmodică, simptom care se menține indiferent de prezența sau nu a bacteriilor, pînă ce are loc refacerea mucoasei.

(iii) *Convalescența* este de lungă durată. Necroza epiteliului favorizează grefarea altor bacterii, condiționat patogene (*S. pneumoniae, H. influenzae, S. aureus* etc.) care dau complicațiile pneumonice și bronhopneumonice, otite medii, responsabile cel mai adesea de mortalitatea mare.

Boala ca și infecțiile inaparente imunizează.

Diagnosticul de laborator. Dacă în stadiul tipic paroxistic diagnosticul este clinic, iar la contacții siguri este clinico-epidemiologic, diagnosticul precoce în stadiul cataral, în care terapia antibacteriană este eficientă, este numai bacteriologic.

Diagnostic rapid: posibil în frotiu de secreție nazo-faringiană, prin test direct cu AF, în faza catarală; are și avantajul că frotiul uscat poate fi expediat la distanță, la un laborator specializat.

Izolarea și identificarea este mai laborioasă: *recoltarea* se face cu tampon steril montat pe un fir subțire, flexibil, netoxic (teflon, cromnichel) introdus pernazal pînă în *cavum* și lăsat pe loc pînă copilul are un acces de tuse (dacă nările nu sînt permeabile, recoltarea se face peroral); *însămînțare* imediată pe placă cu m. Bordet-Gengou cu penicilină (0,5 U/ml)*; (folosirea mediului de transport, *Stuart*, reduce rata izolărilor). Plăcile sînt supravegheate 6 zile și examinate zilnic pentru a îndepărta coloniile de contaminare-mucegaiuri (cu spatulă sterilă); coloniile de *B. pertussis* apar după 3—4 zile. *Identificarea* cea mai rapidă a coloniilor suspecte se face cu AF sau prin test de aglutinare pe lamă cu cele 3 seruri monospecifice și, după purificare, prin teste biochimice (specifice de gen și specie, tabel 49).

Serodiagnosticul este tardiv, retrospectiv, nu este folosit.

Sensibilitatea la A. și terapie. *B. pertussis* este sensibil *in vitro* la toate A. cu spectru larg și la polimixine; eficiența în terapie este în raport direct cu precocitatea aplicării, în faza catarală (greu de diferențiat clinic de alte infecții ale TRS); în faza de sensibilizare și leziuni necrotice, A. nu au eficiență (cel mult, selectează specii rezistente condiționat patogene și periculoase).

Antibioticoterapia în faza catarală permite sterilizarea rapidă a mucoasei și întrerupe evoluția ulterioară; reducînd faza de contagiozitate, și astfel morbiditatea prin tuse convulsivă (rol profilactic).

Profilaxia. *Metodele nespecifice* constau în *izolarea bolnavilor* pînă la negativarea culturilor nazofaringiene.

Vaccinarea este obligatorie și a redus considerabil morbiditatea prin tuse convulsivă; vaccinul este preparat numai pe bază de tulpini foarte virulente capsulate, în faza S (care nu au depășit 25 treceri pe medii artificiale); o înaltă eficiență protectoare are vaccinul preparat din serotipul (-rile) circulant în zona geografică unde va fi utilizat (tabel 49). Folosirea de tulpini degradate aduce în vaccin doar lipopolizaharidul sensibilizant dînd preparate foarte reactogene (care dau reacții la ,,endotoxină'' de intensități variate, locale și chiar febră).

Gradul de protecție este în raport direct cu titrul Ig în momentul contaminării.

---

* Sau, pe placa cu mediu Bordet-Gengou se depune o picătură de penicilină în care se descarcă tamponul și, apoi, dispersia se face cu ansa.

Vaccinarea se face la vîrsta de 6—12 săptămîni şi constă în 3 doze la o lună interval, cu revaccinare la 3 şi 5 ani. Vaccinul anti*pertussis* este administrat de obicei în amestec cu anatoxina tetanică şi difterică (trivaccinul diftero-tetano-pertussis); este foarte eficient. Se consideră că multe din *aşa-zisele eşecuri ale vaccinării sînt de fapt infecţii cu altă specie producătoare de tuse*; există deja părerea că vaccinul ar trebui să conţină şi *B. parapertussis*.

Imunizarea pasivă constă din administrarea de γ-globulină umană (provenită de la donatori hiperimunizaţi, sau care au primit o revaccinare în ultimul an), la contacţii neimunizaţi.

BIBLIOGRAFIE

1. DAVID C.: Histaminosensibilizarea indusă de *Bordetela pertussis* şi alţi agenţi microbieni *Bacteriol. Virusol. Parazitol. Epidemiol., XIX,* 2, 205—216, 1974.
2. DAVID C., POZSGI N.: Efectul tratamentului neonatal cu *B. pertussis* asupra producţiei de anticorpi la şoarece. *Ses. St. Anuală I. C.* (XV), p. 151—154, Bucureşti, 1976.
3. LINNEMANN C. C., PERRY E. B.: *Bordetella parapertussis. Am. J. Dis. Child., 131* 560—563, 1977.
4. SCHMIDT B. J. et all.: Pourquoi ne pas immuniser aussi contre la paracoqueluche? *Allergie-Immunol.,* 3, p. 177, 1973.
5. SUTCLIFFE E. M., ABBOTT J. D.: Selective medium for isolation of *Bordetella pertussis and parapertussis. J. Clin. Path., 25,* 8, 732—733, 1972.
6. * * * Pertussis vaccine potency assay. *Bull. OMS, 44,* p. 673—687, 567—576, 1971.
7. * * * Coqueluche O. M. S. *Relevé Épidém. hebd.,* 1975 (nr. 10, 28).

C. GENUL BRUCELLA

Genul *Brucella* cuprinde trei specii clasice, *Br. melitensis, Br. abortus, Br. suis*, agenţi etiologici ai avortului epizootic, mai ales la animale domestice, transmisibile accidental omului la care determină multe infecţii inaparente dar şi boli grave septicemice cu localizări secundare, cu evoluţie cronică, invaliditate, greu de tratat în această fază.

Istoric. Boala umană a fost descrisă sub diferite denumiri care o caracterizează epidemiologic şi clinic: „febră (f.) de Malta", „f. de capră", „f. nebună", „f. ondulantă", „f. mediteraneană", „f. sudoroalgică" (febră, transpiraţii, dureri)...

Bacteria a fost descoperită în 1887 de *D. Bruce* care a cultivat-o din splina unor decedaţi de febră de Malta, denumind-o *Micrococcus melitensis* (de la *Malta, Melita*). *Bang* (1896), în Danemarca, studiind *avortul epizootic al bovideelor*, a izolat din secreţii uterine agentul etiologic pe care l-a numit *Bacillus abortus bovis. Zammit* (1905) a reizolat *M. melitensis* din sînge şi lapte de capră. *Traum* (1914) în SUA a izolat o bacterie similară în *avortul epizootic al porcului (Suis). Alice Evans* (1918) a remarcat asemănarea morfologică, metabolică, serologică şi patogenetică a acestor bacterii şi a constituit genul *Brucella* cu cele trei specii clasice.

La acestea, noua clasificare (*Bergey's*, 1974) adaugă speciile *Br. ovis, Br. canis* şi *Br. neotomae* (şobolan de pădure in SUA).

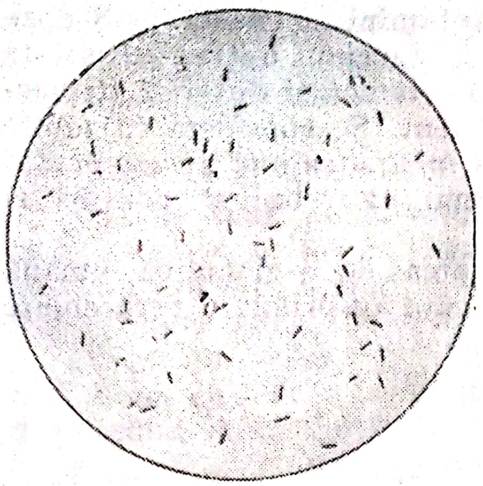


Fig. 97: *Brucella abortus*, frotiu din cultură.

Morfologie. Cocobacili mici (0,5 — — 0,7/0,6 — 1,5 µm) gram-negativ, neciliați, nesporulați, necapsulați*; așezați cel mai adesea dispersați, mai rar în perechi și scurte lanțuri; variantele R sînt foarte pleomorfe, de la forme cocoide pînă la bacilare (fig. 97).

Cultivare. La izolarea din organism, brucellele se adaptează greu pe medii artificiale, culturile pozitivîndu-se în una pînă la 2—3 săptămîni; cresc bine pe medii pe bază de extract de ficat, îmbogățite cu ser (1—5%), glucoză (1%), la *p*H 6,6—7,4, temp. optimă 37°C, în aerobioză. La izolare, *Br. abortus* și *B. ovis* necesită atmosferă cu 5—10% CO_2.

În subculturi, creșterea are loc ușor, în 2—3 zile, chiar pe medii simple. În medii lichide, produc tulburare uniformă și discretă, fără peliculă. Pe medii solide, coloniile în cultură primară sînt de tip S, rotunde, convexe, transparente, nepigmentate, de aproximativ 1 mm ∅, ajungînd în cîteva zile la 2—3 mm ∅. Prin învechire și treceri repetate apar colonii R.

Vitalitate. Brucelele mor în 10 min. la 60°C; rezistă 5—7 zile în produse lactate nepasteurizate, brînză, unt; rezistă săptămîni în fătul mort (în sol), mai mult de o lună în carne congelată.

Caractere biochimice, comune, specifice genului: produc catalază și oxidază (exceptînd speciile nou incluse, *ovis* și *neotomae*); nu sînt hemolitice, nu lichefiază gelatina, nu produc indol, hidrolizează proteinele pînă la NH_3 și H_2S, descompun ureea, acidifică ușor unele zaharuri. Speciile diferă între ele prin caractere incluse în tabelul 51.

Tabelul 51

Genul *Brucella*, caractere de diferențiere a speciilor [1]

Caractere diferențiale		B. melitensis	B. abortus	B. suis
Sensibilitate diferită la coloranți: inhibarea creșterii prin	tionină 1/50 000	—	+	—
	fucsină bazică 1/25 000	—	—	+
	violet de metil 1/50 000	—	+	—
	cristal-violet 1/400	—	—	+
	pironină 1/8 000	—	—	+
CO_2, necesar la izolarea din organism		—	+	—
Hidroliza ureei		lent	lent	repede (10—15′)
Producerea de H_2S în mediu peptonat		urme	3 zile	5 zile
Fermentarea hidrocarbonatelor	inozită	—	+	—
	maltoză	—	—	+
	manoză	—	±	+
	ramnoză	—	+	—
	trehaloză	—	—	+

[1] Unele variații apar în raport cu tehnicile și mediile folosite, cu tulpina testată.

---

* Unii cercetători consideră că *Br. melitensis*, cea mai virulentă specie, posedă, în faza S. microcapsulă.

Structură antigenică și factori de patogenitate.

Antigene de specificitate. Diferențele de structură antigenică între speciile *Brucella* sînt cantitative și calitative; exceptînd *B. ovis* și *B. canis*, celelalte posedă *în faza S două componente de înveliș numite M și A*, solubile, despre care există date că sînt polizaharide: M, prezent în cantitate mare la *B. melitensis*, și A, prezent în cantitate mai mare la *B. abortus*, prezente în raporturi variate și la celelalte specii. *B. ovis* și *B. canis*, chiar la izolare de la animal, sînt adesea în fază *rough*.

Ca urmare, identificarea serologică a speciilor este posibilă numai pentru tulpini în faza S și se face cu cele două seruri aglutinante (adsorbite), anti*melitensis* (anti-M) și anti*abortus* (anti-A), ținîndu-se seama de titrurile reacțiilor obținute în raport cu titrurile celor două seruri imune de referință.

Ag. de patogenitate: brucelele sînt specii virulente și sensibilizante, netoxigene;

— componentele M și A reprezintă factorii de virulență antifagocitari (ele dispar odată cu virulența și *rough*-izarea tulpinelor în subculturi și cu creșterea autoaglutinabilității în SF și în soluție de acriflavină 1/1 000); sînt comparați cu antigenul ,,Vi'' al *S. typhi*;

— complexul lipopolizaharidic, ,,endotoxinic'', prezent atît la tulpini S cît și R, este factorul responsabil de fenomenele de sensibilizare de tip imediat și de tip întîrziat, celular, descrise atît în bruceloza umană, cît și experimentală (febra cu stare de șoc, manifestări alergice cutanate, inflamația monocitară).

Polizaharidele numite M și A sînt probabil componentele cele mai superficiale ale complexului LPS, echivalentul antigenelor "O", sau similar complexului "Vi" descris la *S. tiphi* (v. cap. XXV).

INFECȚII ȘI IMUNOPATOGENEZA

Brucelele sînt bacterii facultativ intracelulare, virulente și puternic sensibilizante.

Infecția bruceloasă (alături de tuberculoză) reprezintă modelul clinic și experimental care a permis descifrarea rolului pe care îl au fenomenele imunologice de tip celular (atît în apărarea antiinfecțioasă, cît și în complicarea și cronicizarea infecției prin constituire de granuloame monocitare, *sensibilizare mediată de celule, tip întîrziat*) în infecții prin b. f. i.

Virulența tulpinilor S, datorată polizaharizilor de suprafață M și A, le asigură rezistența la fagocitoză prin microfage și astfel posibilitatea de înmulțire la poarta de intrare și invazie. Ca și alte bacterii facultativ intracelulare cu ,,endotoxină'', brucelele sînt înglobate de macrofage, dar supraviețuiesc și se înmulțesc în citoplasma acestora. (Acest aspect a fost bine demonstrat *in vitro* prin experiențe pe culturi de monocite de la animal neimunizat și imunizat activ.) Brucelele sînt circulate de macrofage pînă la ganglionii regionali unde se constituie *granulom brucelos primar*; de aici pot fi circulate în toate organele limfoide; sînt captate și supraviețuiesc în celule fagocitare ale sistemului reticuloendotelial din ficat, pulmon etc. În oricare din aceste sedii, inţiază formare de mici focare inflamatorii, adesea necrotice, cu mici bacteriemii (febra ondulantă).

Etapele sînt lungi, încît se instalează *o puternică sensibilizare* la antigene *Brucella*. Activitatea macrofagelor determină distrugeri de bacterii cu eliminare de antigen și constituire de granuloame tot mai mari care localizează infecția, dar care pot evolua uneori spre necroză — cu puroi — în care bacteriile își continuă înmulțirea, întreținînd starea de sensibilizare; această fază cronică a bolii poate dura luni și ani.

Capacitatea de a determina sensibilizare de tip celular este pusă în evidență la bolnav prin test intradermic la brucelină (extracte de *Brucella*), test folosit și pentru diagnosticul de bruceloză.

Habitat. Brucelele sînt bacterii parazite, se înmulțesc numai în gazda infectată; principalul rezervor în natură este reprezentat de caprine, ovine, bovine și porcine; alte mamifere, bivol, cîine, iepure, carnivore și erbivore sălbatice, sînt mai rar infectate.

Infecțiile bruceloase sînt zooantroponoze (boli animale transmisibile omului).

Bruceloza la animale adulte evoluează cel mai frecvent ca infecții inaparente, latente, care devin manifeste în timpul perioadei de gestație, cînd brucelele invadează embrionul — fătul — îl omoară, provocînd aproape constant la bovine avortul cu retenție de placentă; mai rar la caprine, ovine și porcine. *Br. melitensis* dă cel mai frecvent infecția bovinelor, mai rar a caprinelor și ovinelor; *Br. suis* dă infecția la porcine; *Br. abortus* infectează bovine.

Bacteriile se găsesc în cantitate enormă în fătul expulzat și în placentă (cultură pură), în secrețiile uterine care durează adesea luni de zile, în glanda mamară. (Acest tropism deosebit s-ar datora prezenței în placentă a *eritrolului*, factor foarte favorabil dezvoltării brucelelor.)

Brucelele persistă în lapte și în derivate crude de lapte, în carne, pe lîna oilor bruceloase, în gunoiul din staule și pătulele din fermele bruceloase, în fătul mort, zile, săptămîni, luni.

Transmiterea infecției la om se produce în momente epidemiologice favorabile, sezonul fătatului, perioada de lactație; contaminarea are loc cel mai adesea pe cale *digestivă* (prin lapte crud și alte alimente netratate termic provenite de la animale infectate), pe cale *aerogenă* (praf de grajd), pe cale *cutanată* (de obicei infecții profesionale la îngrijitori de animale bolnave, medici veterinari care extrag neprotejați fătul mort din uter etc.). Brucelele pătrund atît prin mucoase cît și prin tegumente intacte sau escoriate.

Bruceloza la om poate evolua inaparent (pusă în evidență de titrul ridicat al Ac la persoane care lucrează în ferme cu bruceloză) sau aparent, în una pînă la trei faze:

granulom brucelos primar, inflamație a ganglionilor regionali porții de intrare, infecția putîndu-se steriliza în această fază, sau urmează *fază ori faze septicemice*, succesive, însoțite de febră, de durate și instensități variabile, de unde numele de ,,febră ondulatorie", cu transpirații și algii (f. sudoroalgică); (bine tratată antibacterian vindecarea poate surveni în această fază);

faza organotropă, cronică, datorată *fenomenelor de sensibilizare celulară,* cu localizare în orice organ sau ţesut (limfoid, visceral, osos, meningoencefalic, articulaţii, seroase etc.).

Fenomene de sensibilizare de tip imediat cu manifestări locale şi generale, sînt deseori declanşate în cursul terapiei cu A în fază septicemică (r. Herzheimer), uneori foarte grave.

Fenomene de sensibilizare pot evolua şi în organism sterilizat bacteriologic la noi contacte cu antigen brucelos; o astfel de manifestare este ,,eczema bruceloasă a veterinarilor".

Aceste aspecte justifică recomandarea grupului de experţi FAO/OMS în probleme de bruceloză de a asocia corticosteroizii în antibioterapia septicemiilor şi manifestărilor de sensibilizare în bruceloză.

Imunitatea este umorală şi celulară (v. cap. XX). În cursul infecţiei apar Ig (puse în evidenţă în scop diagnostic prin reacţii de aglutinare şi RFC). Rolul lor antiinfecţios se manifestă faţă de brucelele aflate extracelular, pe care le opsonizează făcîndu-le susceptibile la liza prin C′ şi la fagocitoză. IMC asigură omorîrea bacteriilor aflate intracelular şi duce la sterilizarea bacteriologică a organismului; chiar fără tratament, vindecarea poate surveni uneori în oricare din cele trei etape ale bolii: (*in vitro* este demonstrat că brucelele supravieţuiesc în culturi de monocite provenite de la animal neimunizat, dar sînt repede fagocitate în culturi provenite de la animal imunizat activ).

Aceste date au determinat prepararea vaccinului anti-*Brucella.*

DIAGNOSTIC

Diagnosticul de bruceloză este bacteriologic, serologic şi prin punere în evidenţă a stării alergice.

Diagnosticul bacteriologic constă din izolarea şi identificarea bacteriei* din produse recoltate, repetat, înainte de orice terapie antibacteriană; se fac însămînţări şi inoculări la cobai.

Culturi: în suspiciune de bruceloză, în fază febrilă, se practică hemoculturi, incubate, în paralel, aerob şi în vas cu lumînare; urmărite 3—6 săptămîni prin treceri pe medii solide din 3 în 3 zile. În acest scop este recomandat flaconul cu două medii, lichid-solid (fig. 98), care permite trecerea repetată a hemoculturii în mediu lichid pe suprafaţa mediului solid, prin simplă înclinare (se evită contaminări posibile prin deschideri repetate ale flaconului).

În faza organotropă brucelele pot fi izolate din măduvă osoasă, biopsii ganglionare, LCR, lichid pleural, peritoneal, articular, însămînţate pe medii solide.

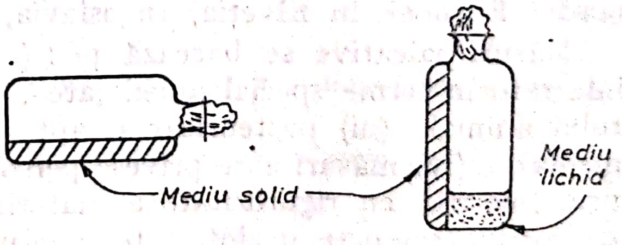


Fig. 98: Flaconul cu mediu, solid şi lichid (difazic), pentru hemoculturi în bruceloză; metoda *Castaneda*, recomandată de *M. Balş.*

---

* Punerea în evidenţă în frotiuri de produs patologic este cel mai adesea negativă.

Coloniile care se dezvoltă sînt verificate morfotinctorial (cocobacili gram-negativ) și identificate serologic și biochimic:

— *identificarea genului Brucella* se face serologic (în test de aglutinare cu ser imun anti-*Brucella* polivalent) și biochimic: nu fermentează sau fermentează foarte slab zaharuri, nu produce urează etc., (suficient în laboratorul clinic);

— *diferențierea speciilor* se face, cel mai adesea, biochimic (tabel 51) și serologic, folosind seruri monospecifice (adsorbite), în teste de aglutinare.

Cobaii inoculați sînt urmăriți 6—8 săptămîni; sîngerați după 3—6 săpt. pentru punerea în evidență a Ac anti-*Brucella* și sacrificați la 8 săpt. pentru însămînțări și frotiuri din sînge și organele limfoide.

Serodiagnosticul este metoda cea mai folosită (permite în bruceloză un diagnostic mai rapid decît prin izolarea bacteriei). Se folosesc reacții de aglutinare și R.F.C*.

Ca antigen aglutinogen *Brucella*, se folosesc suspensii omorîte de *Br. abortus* (fază S); pentru tehnicile de aglutinare în plăci, cu godeuri, singurele recomandate, sînt comode suspensiile colorate (cu roz bengal). Seruri provenite de la vaccinați (recent) antiholeric, pot da unele reacții fals-pozitive la titruri mici (datorită unor fracțiuni antigenice comune); de aceea titrurile semnificative pentru diagnostic de bruceloză încep de la 1/80—1/100 în sus. Aceste titruri sînt atinse după 2—3 săptămîni de la debutul infecției, care este insidios; punerea în evidență a dinamicii ascendente a titrurilor (pe 2—3 probe de ser) este valoroasă pentru diagnostic.

Testul alergic la brucelină, prin i.d.r, tip întîrziat, pozitiv, permite afirmația că o infecție bruceloasă a evoluat sau evoluează.

Sensibilitate la antibiotice și terapie

Brucelele sînt sensibile la A cu spectru larg și polimixine. Persistența intracelulară în leziunile granulomatoase le face însă greu accesibile, atît pentru A ca și pentru imunoglobuline

Profilaxia. Urmărește atît ocrotirea sănătății cît și evitarea pierderilor economice; *sacrificarea animalelor infectate* (depistate prin punerea în evidență a aglutininelor în lapte și în ser) este măsură ideală pentru atingerea ambelor scopuri și a dus la eradicarea brucelozei în țările din nordul Europei, în Elveția, Iugoslavia, Cehoslovacia, Canada.

Măsuri paleative se bazează pe: (i) izolarea și exploatarea animalelor infectate în ferme special amenajate „bruceloase"; (ii) vaccinarea tineretului animal; (iii) pasteurizarea laptelui și sterilizarea altor produse alimentare; (iv) măsuri care privesc personalul expus contaminării în ferme, prin folosirea cu rigurozitate a materialului de protecție (mănuși, cizme de cauciuc, salopete, dezinfectate după utilizare); (v) în URSS se folosește vaccinare cu vaccin viu *B. abortus* (tulpina 19-A) și depistarea sistematică a infecției prin examene serologice periodice și terapia adecvată.

---

* Există date care conferă mai mult credit reacției FC pentru serodiagnosticul brucelozei, comparativ cu aglutinarea, clasică.

BIBLIOGRAFIE

1. ALTON G. G., JONES L. M. : La brucellose : techniques de laboratoire. Publiés sous les auspicies de la FAO et de l'OMS, 1968. *OMS Sér. de monographies*, 55, 1968.
2. BASTIN PR. R. : Sérologie et traitement de la brucellose. *Concours méd.*, 1—6, 98—18, 1976.
3. BENSASSON M. : Le laboratoire dans les brucelloses ostéo-articulaires. Methodes classiques-méthodes récentes. *Sem. des hôpitaux*, 30, 1970.
4. CHEN T. H. et all. : Immunization against *Brucella* infections : serological and immunological studies on a soluble antigen from *Br. melitensis*. *J. Infect. Dis.*, *120*, 2, 143—152, 1969.
5. DIAZ R., MARAVI-POMA E., RIVERO A. : Comparison of counter immunoelectrophoresis with other serological tests in the diagnosis of human brucellosis. *Bull. W. H. O.*, 53, 417—424, 1976.
6. FRIBOURG-BLANC A. : Diagnostic sérologique de la brucellose par la technique d'immunofluorescence. *Presse Méd.*, *78*, 16, 271—272, 1970.
7. FROST A. G., SMITH H., WITT K., KEPPIE J. : The chemical basis of the virulence of *Br. abortus*. X. A surface virulence of *Br. abortus* in bovine phagocytes. *Br. J. Exp. Path.*, *53*, 6, 587—596, 1972.
8. LEQUESNE M. et all. : Le laboratoire dans les brucelloses ostéo-articulaires. Méthodes classiques, méthodes récentes. *Allergie-Immunol.*, *1*, 18, 1971, din *Rev. Rhumatisme*, 1970.
9. MIZON J. P., GENTIT F., LAURANS A., FROISSART M., DESTÉE A. : Méningo-encéphalite et polyradiculonévrite d'origine brucellienne. Isolement de *Br. melitensis* dans le LCR. *Nouv. Presse Méd.*, *5*, 25, p. 1 587, 1976.
10. MYER D. M., MORGAN W. J. B. : Metabolic characterization of Brucella strains that show conflicting identity by biochemical and serological methods. *Bull. OMS.*, *26*, 823—827, 1962.
11. PILLOT J., KOUYOUMDJIAN S., GRANGEOT L. : Sérodiagnostic de la brucellose humaine. *Nouv. Presse Méd.*, *4*, 2, 105—108, 1975.
12. RENOUX G., RENOUX M., TINELLI R. : Phenol-water fractions from *smooth Br. abortus* and *Br. melitensis* : immunochemical analysis and biologic behaviour. *J. Infect. Dis.*, *127*, 2, 139—148, 1973.
13. ROUX J. : Le diagnostic biologique des Brucelloses chez l'homme. *Méd. Malad. Infect.*, 4, 5, 259—266, 1974.
14. RYKNER G. : Diagnostic sérologique des brucelloses en microméthode. *Méd. Malad. Infect.*, *4*, 12, 639—641, 1974.
15. VITTORI F., LACHIÈRE-REY E., GARIN I. P., PONT H. : Endocardite brucellienne. *Presse Méd.*, *79*, 90, 1931—1932, 1971.
16. * * * : Comité mixte FAO/OMS d'experts de la brucellose. *OMS Sér. Rapp. techn.*, nr. 464, 1971.
17. * * * : Éradication de la Brucellose. O. M. S. *Rélevé épidém. hebd.*, nr. 23, 1972.
18. * * * : Brucellose. O. M. S. *Rélevé épidém. hebd.*, nr. 23, 1975.
19. * * * : Brucellosis. *Lancet*, 7 904, p. 436, 1975.
20. * * * : Brucellosis. O. M. S. *Rélevé épidém. hebd.*, nr. 15, 1974 ; nr. 23, 1975 ; nr. 20, 1977 ; nr. 31, 1977.

D. GENUL FRANCISELLA

Singura specie a genului, importantă pentru patologia animală și umană, este *F. tularensis**, agentul *tularemiei*, o zooantroponoză, boală a rozătoarelor transmisibilă accidental omului, descrisă adesea sub denumirea de „ciumă benignă sau pseudopestă" datorită asemănării cu această boală dată de *Yersinia pestis* (fam. *Enterobacteriaceae)*; *Fr. novicida* izolată din probe de apă nu a fost găsită în infecții naturale, dar poate determina infecții experimentale.

Istoric. Agentul etiologic a fost izolat pentru prima dată de *McCoy* și *Chapin*, în 1911 de la veverițe moarte de o boală asemănătoare ciumei, în comitatul *Tulare* din California, *Wherry* și *Lamb* au diagnosticat în 1914 prima infecție la om. *Francis* (1919) a cercetat febra iepurilor din Utah, a găsit bacteria în sîngele bolnavilor, a reprodus boala la cobai, a pus la punct serodiagnosticul, a denumit boala *tularemie*. În 1925, *Ohara* a descris boala în Japonia; în anii următori, a fost identificată în URSS și cercetătorii sovietici au adus contribuții importante la studiul epidemiologic și microbiologic al bolii; în 1946, a fost descrisă în Franța.

În țara noastră, tularemia a fost semnalată prima dată în 1945, de *Damian Petrea*, în acel timp medic de medicină generală în județul Iași; în 1948—49 o mare epizootie a declanșat o epidemie care a cuprins zone din Moldova și estul Munteniei, studiată de *D. Cornelson*, *D. Petrea*, *M. Duca*; în 1949, *Profira Nicolau* a diagnosticat clinic un caz de conjunctivită tularemică, iar *Petre Condrea* a izolat prima tulpină autohtonă de *P. tularensis*, a preparat antigen de diagnostic, un vaccin eficient, a făcut studii bacteriologice; *Maria Franche*, *Alla Vâță* și colab. au studiat boala clinică. Supravegherea infecției în teritoriu, făcută în prezent de *I. Pencea*, *S. Hoișie* și colab., au mai identificat mici epidemii în diferite regiuni: în 1955 la vînători de hîrciogi (Turda), în 1964, generată de rozătoare mici (pe valea Bistriței).

Morfologie. Cocobacil foarte mic, de 0,3—0,7/0,2 μm, neciliat, nesporulat, capsulat (capsulă vizibilă în frotiu din organ de la animale de laborator infectate).

Cultivare. Crește numai pe medii speciale ca m. *McCoy* (gălbenuș de ou, coagulat), m. *Francis* (geloză sînge, cu glucoză și cistină), m. *Condrea* (digestie peptică — cu stomac de porc — din organe de bovine — splină, ficat, pancreas, mușchi, cheag). Este aerob strict, crește la temp. optimă de 37°C. Tulpinile capsulate dau colonii S, puțin cenușii, care ating în 2—5 zile 3—4 mm ∅; în subculturi apar variante R.

Structură antigenică și patogenitate

F. tularensis este o bacterie facultativ intracelulară foarte virulentă, puternic sensibilizantă, netoxigenă.

Virulența este asigurată de capsula cu rol antifagocitar, omogenă antigenic indiferent de sursa și zona geografică de izolare a tulpinii. (Unele înrudiri antigenice au fost demonstrate serologic cu *Brucella* și *Yersinia*.) Gradul de virulență variază în raport cu gradul de dezvoltare al capsulei; tulpinile necapsulate nu sînt virulente. Tulpinile virulente pătrund prin mucoase și tegumente intacte sau mici escoriații, contagiozitatea fiind foarte mare: un *inoculum* minim (50 bacterii) determină îmbolnăvire la voluntari, iar infecția de laborator este practic constantă la persoane nevaccinate care manipulează astfel de tulpini.

---

* Fostă *Pasteurella tularensis*.

F. tularensis este bacterie facultativ intracelulară, nu este înglobată de PN (în organism neimunizat); este înglobată și se înmulțește în macrofage, care le vehiculează în organism, similar modului descris pentru *Brucella*.

Sensibilizarea de tip celular poate fi determinată experimental, atît cu tulpini capsulate cît și necapsulate, iar la infectați (și foști infectați) este pusă constant în evidență prin i.d.r. la *tularină*. Tulpini vii ca și omorîte (capsulate și necapsulate) reproduc experimental activități patologice identice celor descrise pentru „endotoxinele" bacililor gram-negativ.

Habitat. *F. tularensis* este un parazit al animalelor, artropodelor, țînțari și căpușe, păsărilor și al omului. Rezervorul de infecție în natură este reprezentat de numeroase rozătoare sălbatice mici și mari: iepuri, șobolani, șoareci de cîmp și de casă, popîndăi, hîrciogi, bizami, veverițe etc.; aproximativ 100 de specii capabile de a face infecția au fost descrise.

Animalele fac septicemii masive cu letalitate foarte mare la rozătoarele mici; urina și cadravele contaminează apa, cereale etc.; bacteria persistă mult în carnea refrigerată-congelată.

Contaminarea omului are loc prin contact direct și indirect cu animale bolnave și produse provenite sau contaminate de acestea: *contact direct* cu sînge, alte umori, cu organe de la animale infectate (apare la vînătorii de iepuri și șobolani de apă, la gospodine care prelucrează iepurele etc.), prin *scăldat*, *ingestie* de apă contaminată sau carne insuficient prelucrată termic, prin *mușcături de insecte* hematofage (căpușe, țînțari, purici) sau animale infectate; pe cale *aerogenă* (au fost descrise epidemii după treierat în zone cu epizootii la șoareci de cîmp) etc.

Infecție. La om, *F. tularensis* pătrunde cel mai adesea prin tegumente, conjunctivă, tractus respirator. Tularemia poate evolua și inaparent; în epidemii, numărul acestora este mai mare decît al formelor clinice; sînt puse în evidență prin serodiagnostic și, mai ușor, prin i.d.r. la tularină.

Tularemia clinică este caracterizată de (i) leziuni la poarta de intrare (ulcer cutanat, cînd bacteria pătrunde printr-o leziune, de obicei înțepătura insectei hematofage), conjunctivită (tip *Parinaud*), cînd pătrunde pe această cale, angină discretă cînd poarta de intrare este pe mucoasa TRS; (ii) inflamația ggl regionali, bubonul tularemic, care poate ajunge la necroză și supurație și, a cărui localizare (laterocervicală, axilară, inghinală etc.) indică în izbucnirile epidemice calea predominantă de transmitere și poarta de intrare; (iii) focare miliare inflamatorii — pînă la necrotice — în organele limfoide caracteristice sensibilizărilor de tip celular; forme bronhopneumonice (pătrundere aerogenă), forme tifoidice (pătrundere digestivă).

Cel mai adesea, singura leziune observată la bolnav este bubonul regional. Indiferent de forma clinică, evoluția este benignă (mortalitatea în infecția netratată nu depășește 6—7%), dar este de lungă durată, asteniantă, supurațiile lasă sechele cicatriciale.

Diagnostic. În afară de tularemia oculoganglionară care poate fi diagnosticată clinic, toate celelalte forme se confundă cu numeroase alte boli (pesta bubonică, TBC ganglionară, angine ulceromembranoase de alte etiologii, formele viscerale se confundă cu febra tifoidă etc.), încît, diagnosticul prezumtiv este epidemiologic, iar confirmarea etiologiei este bacteriologică și prin punerea în evidență a stării de sensibilizare tip întîrziat (celular).

Diagnosticul bacteriologic. (Examenul microscopic al produselor patologice de la bolnav și însămînțarea dau constant rezultate negative, spre deosebire de pesta bubonică.)

Izolarea bacteriei din boala umană, totdeauna paucibacilară, reușește cel mai bine prin inoculare la animale foarte sensibile *(șoarece, cobai)*: *sînge* (recoltat în primele 3—4 zile de boală) și mai ales *exsudat ganglionar* (extras prin puncție în perioada de congestie, anterior fistulizării), sînt inoculate intraperitoneal; produs de raclaj de pe ulcerațiile conjunctivale pot fi inoculate s.c.; animalele fac infecții septicemice, cu localizări miliare vizibile la lupă (la șoarece) și cu ochiul liber (la cobai), urmate de moarte. De la animal bacteria poate fi izolată pe mediile speciale prin însămînțarea mojaratului de splină și prin hemocultură.

Identificarea bacteriei izolate se bazează pe aspectul foarte caracteristic macro- și microscopic al bolii animale, morfologia bacteriei, cel mai adesea intracelular (fig. 99), faptul că a fost izolată numai pe animal, cultivare numai pe medii speciale; identificarea este precizată prin aglutinare cu ser imun de referință, anti*tularensis*, sau cu AF în test direct de imunofluorescență.

Diagnosticul serologic, punerea în evidență a imunoglobulinelor specifice, se face prin reacții de aglutinare: ca antigen, se folosesc suspensii formolate 0,1%. Titrurile diagnostice încep de la 1/60—1/80 care pot fi găsite din a 2-a săptămînă de boală și pot atinge uneori 1/6 000; titruri remanente, 1/20—1/40, persistă ani de zile.

Diagnosticul stării de sensibilizare se face prin i.d.r. la tularină (autolizat de *F. tularensis*); reacția se pozitivează după 3—5 zile de la debutul infecției și persistă cîțiva ani.

Sensibilitatea la A. este aceea descrisă pentru toți cocobacilii gram-negativ; nu s-au izolat tulpini cu rezistență dobîndită la A; streptomicina este de elecție în terapie; (supurațiile se tratează chirurgical).

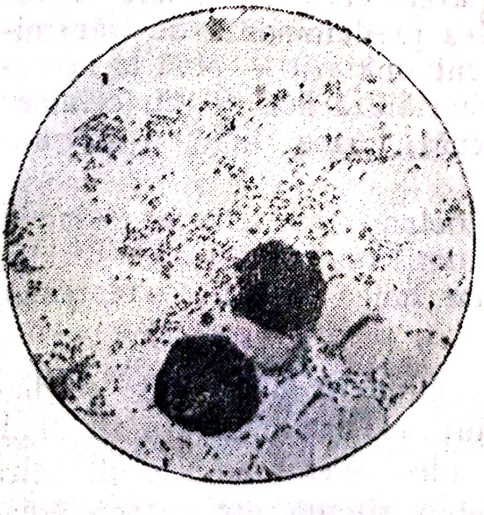


Fig. 99: Francisella tularensis.

Profilaxia nespecifică se referă la evitarea contactului cu rozătoare bolnave, moarte; în contaminarea sigură de laborator, se practică antibiotico-profilaxie cu S.

Vaccinul omorît preparat din tulpini capsulate este cel mai eficient; vaccinarea se recomandă în perioade epizootice-epidemice, regional, și la personalul din secțiile de laborator care prepară vaccin și produse biologice pentru diagnostic (suspensie de *F. tularensis* pentru aglutinare tularină prin i.d.r., seruri imune de referință).

BIBLIOGRAFIE

1. BASTIN PR. R.: Traitement d'une tularémie un peu particulière. *Concours Méd.*, 24/4, 98–17, 1976.
2. CONDREA P., DUCA E., LASCU N., CHEPTEA A.: Medii de eletie pentru cultivarea bacteriei tularense. *Rev. Ig. Microbiol. Epidemiol.*, 1, 36–39, 1951.
3. CONDREA P., PENCEA I., RANTA V., GHILEZAN I., MUREŞAN T., KUN M., SASU D., SAVA M., MARCHES GH.: Epidémie de tularémie de type professionnel déterminée par le *Cricetus-cricetus. Arch. Roum. Path. Exper. Microbiol.*, *18*, 2, 175–179, 1959.
4. CORNELSON D., PETREA D., DUCA M. şi colab.: Contribuţii la studiul tularemiei. *Bul. Şt. Acad. RPR, Şt. med.*, 3, 809–838, 1951.
5. EIGELSBACH H.-T.: Tularémie. *MP*, *3*, 32, 1975.
6. LACUT J. Y.: Diagnostic et traitement des pasteurelloses. *Concours Méd.*, *99*, 19, 2 959–2 972, 1977.
7. PENCEA I. şi colab.: Tularemia în regiuni considerate indemne. *Microbiol. Parazitol. Epidemiol.*, 2, 187–190, 1960.
8. PENCEA I. şi colab.: Studiul unor îmbolnăviri de tularemie apărute în cîteva localităţi din zona subcarpatică a Moldovei. 1 Aspecte epidemiologice. *Viaţa Medicală*, *15*, 16, 1 137–1 140, 1968.

E. GENUL PASTEURELLA

Cuprinde o specie principală *P. multocida* şi speciile (sau variantele) *P. pneumotropica*, *P. haemolytica*, *P. ureae*, agenţii pasteurelozei, o zooantroponoză, transmisă accidental la om.

Pasteurelele sînt comensali ai intestinului şi mucoasei TRS la mamifere şi păsări, rar la om, capabile să determine îmbolnăviri similare, la numeroase specii.

Cea mai importantă pentru patologia animală este *P. multocida (septica)*, agentul unor septicemii hiperacute cu sindrom hemoragic, bronhopneumonic, gastrointestinal; mai rară este evoluţia cronică cu supuraţii articulare, pleurale etc. Este agentul *holerei găinilor*, la care dă epizootii masive cu mortalitate foarte ridicată; a fost *izolat de Pasteur şi folosit în primele sale studii privind imunizarea activă*, care au dus la prepararea primului vaccin bacterian viu atenuat.

P. multocida infectează accidental omul, mai ales copii şi bătrîni (celelalte specii au fost descrise doar excepţional în infecţii la om). Pătrunde cel mai adesea prin muşcături, zgîrieturi de cîine, pisică, determinînd de obicei supuraţie la poarta de intrare *(panariţiu, flegmon)*, cu inflamaţia traiectului limfatic *(limfangită)* şi a ggl regionali *(adenită)*; *septicemiile* şi localizările secundare *(meningite)* sînt excepţionale. Contaminarea aerogenă poate genera în anumite condiţii (alcoolism, tabagism la bătrîni etc.), infecţii ale TRI, excepţional *epiglotite* la sugar. (Este confundată în unele infecţii, ca meningite şi epiglotite, cu *H. influenzae*.) Infecţia este dată de tulpini M şi S, capsulate, factorul de virulenţă fiind capsula polizaharidică; tulpinile R nu sînt virulente.

P. multocida poate fi izolată uşor din puroiul leziunilor primare, puroi pleural, articular, LCR, spută, sînge. Creşte pe medii simple, cel mai bine pe geloză cu 5% sînge (mediile cu bilă inhibă creşterea), în incubare aerobă cu 5—10% CO_2, la 37°C. Dă colonii de 1—3 mm ∅, M sau S, nehemolitice; în frotiu se văd cocobacili gram-negativ de 0,8—1,5/0,15—0,25 μm, așezați cîte unul, în perechi sau scurte lanțuri; catalază, oxidază și indol pozitiv; betagalactozidază negativ (alte caractere diferențiale ale speciilor *Pasteurella* în „Manual of clinical Microbiology, Lennette, Spauling, Truant, 1974).

Nu se folosește serodiagnostic (dă prea multe reacții fals-pozitive, fie prin Ac anamnestici datorați infecțiilor inaparente, fie Ac față de Ag comune și altor bacterii).

P. multocida este sensibilă la A cu spectru larg (S, T, G, K, A, R), la Po și, spre deosebire de alți cocobacili gram negativ, la penicilină (0,2—0,4 μg/ml).

BIBLIOGRAFIE

1. GRIFFIN A. J., BARBER H. M.: Joint infection by *Pasteurella multocida*. *Lancet*, *1*, 1 347—1 348, 1975.
2. JONSON R. H., RUMANS L. W.: Unusual infections caused by *Pasteurella multocida* *JAMA*, 237, 146—147, 1977.
3. LACUT J. Y.: Diagnostic et traitement des pasteurelloses. C. M. — 75, 1977, 99—19, 2 959—2 972.
4. MAURER K. H., HASSELBACHER P., SCHUMACHER H. R.: Joint infection by *Pasteurella multocida*. *Lancet*, p. 409, 1975.
5. * * * *Pasteurella multocida*. *Publ. Hlth. Lab. Serv.*, nr. 44, 1976.
6. * * * *Pasteurella multocida*. O. M. S. *Rélevé épidém. hebd.*, 10, p. 95, 1977.

F. GENUL CALYMMATOBACTERIUM

Unica specie, *Calymmatobacterium granulomatis* (fost *Donovania g.*) este un cocobacil de 1—2/0,6—0,8 μm, cu capete rotunjite, singur sau în mici grămezi, încapsulat, imobil; se colorează uni- sau bipolar (luînd aspect de agrafă); cu albastru de metilen, capsula se colorează metacromatic, în roz.

A fost izolat pentru prima dată prin inocularea produsului patologic în sacul vitelin la embrion de găină; poate fi izolat și pe medii proaspete cu gălbenuș de ou. După izolare, crește și pe alte medii bogate; pe geloză pe bază de infuzie de cord de bou dă colonii de 1,5 mm ∅, strălucitoare și transparente.

Vitalitatea în mediu extern este foarte redusă.

Nepatogen pentru animale de laborator, infecția a fost reprodusă numai pe voluntari.

Are înrudiri antigenice cu *Escherichia* și *Klebsiella*; este bacterie virulentă și sensibilizantă (tip celular, ca bacterie facultativ intracelulară).

Are habitat uman, adaptat la mucoasa genitală.

Donovanoza este una din infecţiile cu transmitere sexuală (MTS), minoră, rară în regiuni temperate, mai frecventă în cele calde. Se manifestă în stadii :

— la poarta de intrare (pe tegumentele şi mucoasele genitale, externe, vagin, col, uretră), apar papule şi noduli care se erodează dînd abcese de 1—4 cm ∅, nedureroase (interesează epiteliul scvamos stratificat, umed) ; se vindecă foarte uşor cu antiseptice locale, sau A ;

— al doilea stadiu este extinderea ulcerelor în suprafaţă şi profunzime, prin autoînsămînţare, cu apariţia de noi leziuni şi supracontaminare, mai ales cu asociaţia anaerobă fuzospirochetică (v. cap. XXIX şi XXXIII) ; vindecare uşoară, cu cicatrici suple şi depigmentate ;

— stadiul terţiar este azi rar şi apare consecutiv accesului bacteriei pînă la ganglionii regionali cu inflamaţie şi edem, uneori ulcer ; la bărbat bubonul este inghinal, de unde şi numele de *granuloma inguinale*, la femeie este mai periculos, perianal şi perineal ; vindecarea are loc cu formare de ţesut fibros-cheloid care duce la stricturi uretrale, vaginale şi anale, cu insule active inflamator (de unde caracterul recidivant, şi posibilitatea de diagnostic etiologic şi în acest stadiu). În cazuri netratate, recidivante, este descrisă malignizare.

Diagnosticul este citobacteriologic, aproape patognomonic. În raport cu stadiul infecţiei, se recoltează mici fragmente bioptice de ţesut granulomatos de la marginea ulcerului (şi se fac frotiuri prin zdrobire între două lame), sau serozitate aspirată din bubon (produsul cel mai indicat pentru diagnostic). În frotiu este patognomonică predominanţa monocitelor—plasmocitelor şi mononucleare gigante (20—60 μm ∅) cu citoplasma burată de bacili gram-negativ, coloraţi bipolar şi incapsulaţi.

C. granulomatis este foarte sensibil la eritromicine şi A cu spectru larg (T, S) ; este rezistent la P şi Su ; au fost raportate tulpini rezistente la S.

Ca şi alte bacterii cu transmitere sexuală, este sensibil la antisepticele uzuale în igiena intimă din perioada de activitate sexuală, ca permanganat de potasiu (0,25 g/l).

G. GENUL CARDIOBACTERIUM

Unica specie *Cardiobacterium hominis* este un comensal al TRS la om, accidental patogen, agent mai rar al e. b. s., cu acelaşi mecanism de contaminare ca şi pentru *S. viridans* (cap. XXII B) ; 1—3/0,5—0,75 μm, pleomorf, necapsulat, imobil, în lanţuri scurte şi mici grămezi ; facultativ anaerob ; poate fi izolat din e. b. s. pe medii bogate, cu ser ; creşte în 3—4 zile ; trecut pe geloză-sînge dă colonii de 0,5 mm ∅ nehemolitice. Nu este patogen pentru animale de laborator, vitalitate redusă în mediu extern şi culturi. Este natural sensibil la P, A, S, T, C, N.

XXV. FAMILIA ENTEROBACTERIACEAE

BACILI GRAM-NEGATIV FACULTATIV ANAEROBI

> ,,O deosebită atenție trebuie acordată supravegherii și îmbunătățirii continue a condițiilor igienico-sanitare, care în salmoneloze ca și în toate infecțiile enterice intervin cu o pondere decisivă'' (*Marcela Popovici*, 1974).

Familia **Enterobacteriaceae** cuprinde 12 genuri grupate în 5 triburi; alături de *Vibrionaceae*, furnizează cele mai multe din speciile responsabile de boala acută diareică și toxiinfecțiile alimentare. Genul-tip al familiei este *Escherichia* (tabel 52).

Tabelul 52

Familia *Enterobacteriaceae* **: triburi, genuri, specii, serogrupe, serotipuri**

Trib. I. *Escherichiae*	*Escherichia* (1 specie; 163 serogrupe ,,O''; mii de serotipuri)[1]; (*Edwardsiella*)(1 specie: 18 serotipuri); saprofit al intestinului la pești, șerpi, rareori izolat de la om. *Citrobacter* (2 specii; 42 serogrupe ,,O''; multe serotipuri)[2]; *Salmonella* (4 subgenuri: > 1500 serotipuri)[3]; *Shigella* (4 subgrupe; 34 serotipuri).
Trib. II. *Klebsiellae*	*Klebsiella* (3 specii; 23 biotipuri: > 80 serotipuri); *Enterobacter* (22 specii: > 80 serotipuri); (*Hafnia*) (1 specie: 49 serotipuri) saprofit al colonului și mediului extern; *Serratia* (1 specie: 46 serotipuri).
Trib. III. *Proteae*:	*Proteus* (5 specii: aprox. 277 serotipuri).
Trib. IV. *Yersiniae*	*Yersinia* (3 specii; multe serotipuri de *Y. enterocolitica* și *Y. pseudotuberculosis*).
Trib. V. *Erwiniae*:	(*Erwinia*) (13 specii: multe subspecii); saprofite ale vegetalelor și fitopatogene.

---

[1] *Escherichia*, număr serotipuri: posibilități de combinare a 163 serogrupe ,,O'', cu > 90 Ag ,,K'' și > 50 Ag ,,H''.

[2] *Citrobacter*, număr serotipuri: posibilități de combinare a > 42 Ag ,,O'' cu > 90 Ag ,,H'' (în 1969).

[3] Cele 4 subgenuri diferențiate biochimic ar corespunde (în alte clasificări) definiției de specie; celor peste 1500 serotipuri (care la alte specii sînt desemnate numeric), la genul *Salmonella* li s-au acordat denumiri conforme nomenclaturii binominale rezervată speciilor (se prevede o măsură radicală din acest punct de vedere, ca aceea aplicată nomenclaturii serotipurilor *Leptospira*).

Modificări față de clasificări anterioare:

genul *Aerobacter* este integrat în *Enterobacter* (mobili), *Klebsiella* (imobili);
grupul *Bethesda-Ballerup*, integrat în *Citrobacter* sau *Escherichia*;
genul *Levinea*, integrat în *Citrobacter*;
grupul *Arizona* este subgenul III al genului *Salmonella* (tabel 57);
grupul *Alkalescens-Dispar* este integrat în genul *Escherichia* (variante care fermentează glucoza fără gaz, fermentează tîrziu sau de loc, imobile);
serotipurile *Salmonella coli*, *Escherichia*, O_{67}, O_{72}, O_{94}, O_{112} au fost integrate în *Citrobacter*;

genul *Yersinia*, fost *Pasteurella* integrat în familia *Enterobacteriaceae*.

( ); între paranteze sînt genurile care cuprind specii nedemonstrat patogene pentru om.

1. VARIABILITATEA LA ENTEROBACTERIACEAE

> „Întregul grup *Citrobacter* se află *in the melting pot* și a fost desmembrat în alte specii... și genuri" (Bergey's Manual of Determinative Bact. 8-th Ed., 1975, p. 297).

Instabilitatea clasificării oglindită în tabelul 52, reflectă numeroasele posibilități de *variație* și *selecție* caracteristice membrilor acestei familii, datorate habitatului lor intestinal; în acest biotop ecologic extrem de complex și variabil, care le oferă condiții optime de metabolism activ, și în care sînt prezenți fagi și au loc dezintegrări pînă la DNA-liber, toate mecanismele de variație genetică funcționează activ (v. cap. X). Variația și selecția sînt intensificate de modificarea substratului nutritiv prin variatele regimuri alimentare și lichide ingerate; are loc o continuă reînoire a florei; la cea mai mică greșeală de regim, bacterii din alimente—apă depășesc bariera gastrică și se adaugă florei din colon; durata lor de persistență depinde de antagonismul exercitat de speciile rezidente.

Ca urmare, numeroase specii, serogrupe și serotipuri se subdivid în biotipuri, în tipuri fagice (lizotipuri), bacteriocinotipuri, antibioticotipuri, iar variațiile sînt nesfîrșite. (În tabelele cu caractere diferențiale, semnul + înseamnă doar ⩾ 90% tulpini pozitive, iar semnul — înseamnă ⩾ 90% tulpini negative; aspect ce subliniază o dată în plus marea variabilitate) Noi serotipuri sînt adăugate mereu speciilor și genurilor. Pe de altă parte, reacțiile serologice încrucișate sînt foarte multe, ceea ce denotă că delimitările sînt numai taxonomice, recombinările fiind regula; exemplificăm prin tabelul 53, reprodus din *Bergey's Manual*, 1975, și cităm: „... un mare număr de nume de oameni de știință, și cum unele din aceste nume sînt vechi și împămîntenite, ele devin principalul obstacol în calea unei modificări, necesare, a ierarhizării în această familie, ca prim pas către o revizuire a clasificării".

Tabelul 53

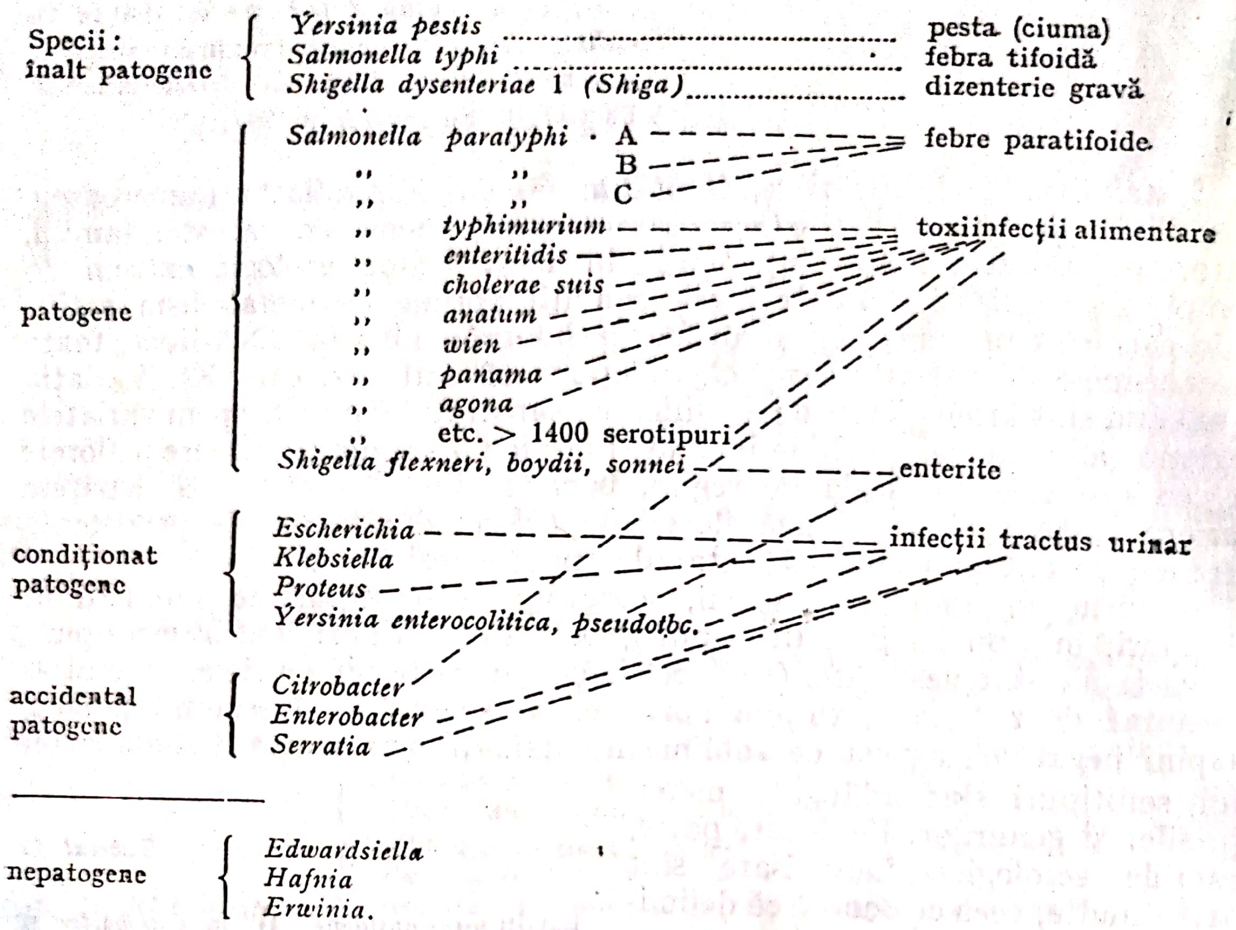
Relații între antigene „O" la *Citrobacter* **și** *Salmonella* (*Bergey's Manual*, **1975, p. 298**)

Citrobacter grupe „O"	Salmonella antigen „O"
Ci 3	Sa 41 *S. waycross*
Ci 9	Sa 30 *S. urbana*
Ci 11	Sa 40 *S. riogrande*
Ci 12	Sa 44 *S. niarembe*
	Sa 57 *S. locarno*
Ci 14	Sa 38 *S. inverness*
Ci 19	Sa 6, 14, 25 *S. onderstepoort*
Ci 20	Sa 17 *S. kirkee*
Ci 21	Sa 6, 14, 24 *S. carrau*
Ci 22	Sa 4, 5 *S. paratyphi-B*
Ci 23	Sa 18 *S. cerro*
Ci 26	Sa 21 *S. minnesota*
Ci 37	Sa 48 *S. djakarta*
Ci 38	Sa 8, 20 *S. kentucky*
Ci 39	Sa 3, 10 *S. anatum*
Ci 40	Sa 57 *S. locarno*
Ci 41	Sa 55 *S. tranoroa*
Ci 42	Sa 54 *S. uccle*
Ci 43	Sa 28 *S. dakar*
Ci 44	Sa 35 *S. adelaide*

Excepție fac bacteriile parazite înalt patogene (*S. typhi* și *Y. pestis*) care demonstrează o mult mai mare stabilitate genetică deoarece habitează în zone normal sterile: *S. typhi* se înmulțește în ileonul și macrofagele bolnavului și în vezicula biliară la purtătorul sănătos, colonul fiind numai cale de eliminare; chiar și în aceste condiții, au fost izolate variante lactozopozitive, variante multirezistente la A și Ch prin fR etc.

Tabelul 54

Enterobacteriaceae, **grade de patogenitate pentru om**


Specii : înalt patogene
Yersinia pestis — pesta (ciuma)
Salmonella typhi — febra tifoidă
Shigella dysenteriae 1 (Shiga) — dizenterie gravă
patogene
Salmonella paratyphi A
,, ,, B
,, ,, C
febre paratifoide
,, typhimurium
,, enteritidis
,, cholerae suis
,, anatum
,, wien
,, panama
,, agona
,, etc. > 1400 serotipuri
toxiinfecţii alimentare
Shigella flexneri, boydii, sonnei
enterite
condiţionat patogene
Escherichia
Klebsiella
Proteus
Yersinia enterocolitica, pseudotbc.
infecţii tractus urinar
accidental patogene
Citrobacter
Enterobacter
Serratia
nepatogene
Edwardsiella
Hafnia
Erwinia.

2. IMPORTANŢA ENTEROBACTERIACEELOR ÎN PATOLOGIA ACTUALĂ

Familia *Enterobacteriaceae* conţine mii de serotipuri (tabel 52) de toate gradele de patogenitate (tabel 54). Grupele care pun azi mari probleme patologiei infecţioase nu mai sînt speciile înalt patogene*, în schimb, creşte mereu numărul infecţiilor cu specii condiţionat patogene, *Escherichia, Klebsiella, Proteus*, în competiţie cu acestea fiind toxiinfecţiile alimentare şi enteritele cu cele peste 1 500 serotipuri *Salmonella* şi infecţiile cu *Shigella*.

Cele mai multe internări în spitale, cele mai multe tratamente, cea mai mare rată a morbidităţii este dată de bacterii, virusuri şi paraziţi cu poartă de intrare digestivă, pentru că măsuri simple de igienă nu sînt aplicate în masa populaţiei.

Aceste bacterii dau la sugar boli la fel de grave ca speciile înalt patogene la adult : bacteriemii cu localizări secundare meningeale etc.

---

* Ne place să afirmăm că datorită (i) deratizării şi dezinsecţiei *pesta* este eradicată în Europa ; (ii) vaccinarea şi sanitizarea apei de băut reduc mereu *febrele tifoide* la cîteva zeci de cazuri anual, în multe ţări, inclusiv ţara noastră ; (iii) dizenteria gravă prin bacilul *Shiga* nu a mai fost citată în ţara noastră din 1962 (a dat însă o enormă epidemie în Mexic în 1968/69).

Enterobacteriaceele condiţionat patogene fac parte, de asemenea, din agenţii infecţiilor de spital: peste 90% din ITU în secţii de genito-urinare sînt date de *Escherichia* şi astfel de infecţii ating în unele spitale pînă la 90% din bolnavi.

,,Deşi incidenţa şi rata de mortalitate prin bacili gram-negativ nu-i cunoscută", date aproximative înregistrează 71 000—140 000 cazuri anual în SUA cu aprox. 18 000 de decese (*T. Cooper* J. Inf. Dis., 1976). În plus, ,,*antibioterapia masivă favorizează proliferarea bacililor gram-negativ cu slabă putere patogenă făcîndu-i mai agresivi*" (,,*La prévention de la morbidité et de la mortalité périnatales*" — OMS: *Cahiers de S. P.*, 42, p. 35, 1971).

3. HABITATUL ENTEROBACTERIACEELOR

Enterobacteriaceele sînt în majoritate specii cu habitat intestinal (excepţie *Yersinia pestis*); se diferenţiază:

(i) *specii patogene prezente numai la om bolnav, sau fost bolnav:*

— agenţii febrelor tifoide, *S. typhi*, *S. paratyphi A*, probabil şi *B*, habitează la unii foşti bolnavi vezicula biliară;

— agenţii dizenteriei, speciile *Shigella*, se înmulţesc numai în colonul omului;

(ii) *saprofiţi ai colonului la om şi animale (Escherichia, Enterobacter, Citrobacter)*, condiţionat patogeni;

(iii) *specii cu habitat în colon la diferite animale, transmisibile omului* (numeroasele serotipuri *Salmonella*, *Yersinia enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis*, rareori *Edwardsiella*);

(iv) *saprofiţi ai mediului extern* care populează uneori colonul, la om şi animale, *Klebsiella*, *Proteus*, *Serratia*, *Hafnia*;

toate contaminează adesea solul (vegetalele), apele şi alimentele, care devin căi sau chiar surse de contaminare a omului;

(v) *Yersinia pestis* diferă prin habitat la rozătoare sălbatice care fac şi boală, şobolani, (vehiculată de purice la om).

4. MORFOLOGIA ŞI COLORABILITATEA ENTEROBACTERIACEELOR

Bacili drepţi, de 1—4/0,4—0,6 µm, cu capete rotunjite, aşezaţi izolaţi, excepţie *Klebsiella* şi *Y. pestis*, aşezate cel mai adesea în perechi sau scurte lanţuri. Nesporulaţi. Majoritatea sînt mobili cu cili peritrichi, excepţie *Shigella*, *Klebsiella* şi *Y. pestis* care sînt imobili. *K. pneumoniae* şi multe serotipuri *Escherichia* formează capsule; cele mai multe grupe sînt necapsulate.

Bacilii gram-negativ, se colorează omogen (fig. 100), excepţie *Y. pestis* care în coloraţia Giemsa se colorează bipolar.

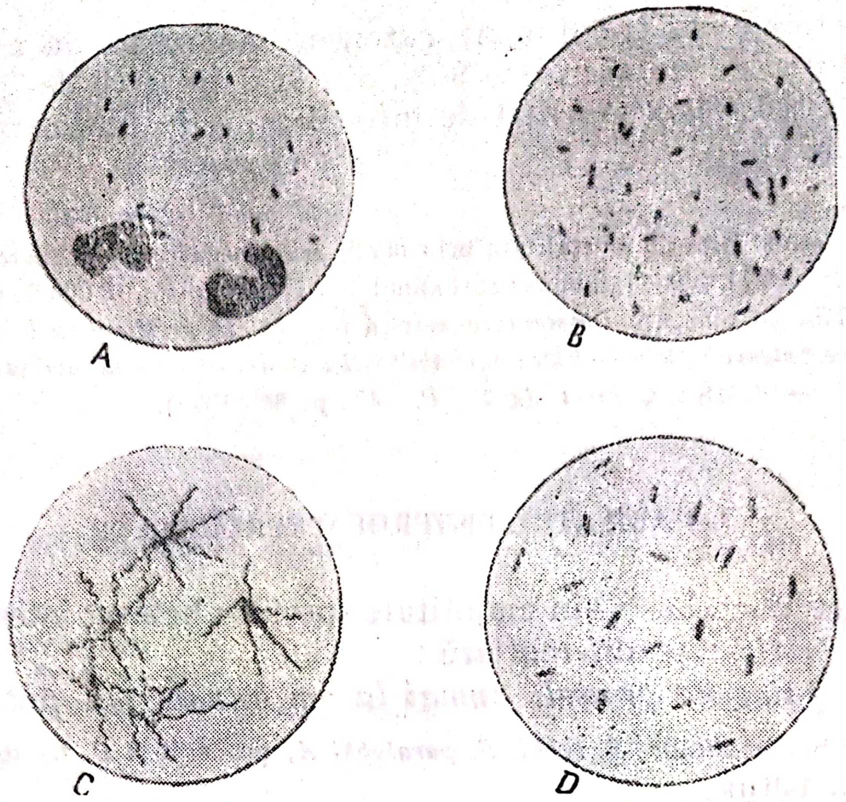


Fig. 100: Aspecte morfologice ale membrilor familiei *Enterobacteriaceae*

(A) *Escherichia coli*, frotiu din urină; (B) *Shigella flexneri* frotiu din cultură; (C) *Salmonella typhi*, colorație specială pentru cili; (D) *Proteus, frotiu cultură.*

5. CULTIVAREA ENTEROBACTERIACEELOR

Toate sînt facultativ anaerobe (excepție un serotip *Shigella*); cresc bine pe bulion și geloză simplă la 37° (cu unele excepții — tabel 55). La izolarea din organism cresc mai bine pe medii cu sînge, ser, glucoză.

Izolate din infecții, formează colonii S de 1—3 mm Ø, translucide, (variantele R sînt frecvente); excepție fac speciile *Proteus* care invadează rapid suprafața mediilor solide dînd culturi în văl *(Hauch)* caracter care nu apare pe medii cu bilă, și speciile *Klebsiella*, capsulate, care dau colonii foarte mucoase (M) și cultură luxuriantă. Toate tulbură omogen mediile lichide; excepție speciile *Proteus* care formează văl și *Klebsiella* care formează inel.

Pentru izolarea speciilor patogene din produse supracontaminate, ca materii fecale, se folosesc medii selective în care se includ: substanțe față de care bacilii gram-negativ sînt în general mai rezistenți decît bacteriile gram-pozitiv (verde briliant); agenți ca citratul, săruri biliare sau bilă față de care speciile *Shigella*, *Salmonella* sînt mai rezistente decît saprofiții permanenți ai intestinului *(Escherichia, Enterobacter)*; sulfat de bismut (m. *Wilson-Blair*) care inhibă dezvoltarea speciilor *Shigella* etc. Unele medii includ și/sau substanțe de diferențiere, cum este lactoza (cu indicator de *p*H), indicator pentru producere de H_2S (tabel 55).

6. CARACTERE BIOCHIMICE LA ENTEROBACTERIACEAE

Caractere biochimice specifice familiei: fermentează glucoza, reduc nitrații în nitriți (excepție *Erwinia*); sînt catalază-pozitiv, oxidază-negativ.

Caractere care diferențiază cele 5 triburi ale familiei și caractere care diferențiază genurile, în tabelul 55.

Tabelul 55

Enterobacteriaceae: **triburi şi genuri, caractere diferenţiale**

Trib	Gen	Caractere de familie: catalază	oxidază	glucoză	reducerea nitraţilor	temp. optime °C de creştere	cultivare în mediu cu KCN	ureaza	dezaminarea fenilalaninei	Voges-Proskauer	roşu de metil	capsula vizibilă	mobilitate	pigment roşu	colonii invadante	citrat ca unică sursă de C	malonat ca unică sursă de C	creştere pe medii cu bilă	lizin decarboxilază	producere H_2S	producere indol	lichefierea gelatinei	Fermentare: lactoză	adonită	inozită	ramnoză	manită	sorbitol
I	*Escherichia*	+	−	+	+	37	−	−	−	−	+	±	+	−	−	−	+	±	+	−	+	−	+	−	−		+	+
	(Edwardisella)	+	−	+	+	37	−	−	−	−	+	−	+	−	−					+	+	−	−	−	−		−	−
	Citrobacter	+	−	+	+	37	D	−	−	−	+	−	+	−	−		D			D	D	−	+	−	−		+	+
	Salmonella	+	−	+	+	37	−	−	−	−	+	−	+[1]	−	−	+[3]	−	+	+	+	−	−	−[11]	−	V		+	+
	Shigella	D	−	+	+	37	−	−	−	−	+	−	−	−	−	−	−	+	−	−	V	−	−[10]	−	−		D	
II	*Klebsiella*	+	−	+	+	37	+	+	−			+	−	−	−	+	+	+	+	−	V	V	D	V	+		+	+
	Enterobacter	+	−	+	+	37	+		−			−	+	−	−								+	+	D		+	+
	(Hafnia)	+	−	+	+	37	+		−			−	+	−	−								−	−	−		+	−
	Serratia	+	−	+	+	37	+		−			−	+	+	−								−	V	V		+	−
III	*Proteus*	+	−	+	+	37	+	+[4]	+[4]		+	−	+	−	+	V	−	±	−	D	+[5]	D[6]	−	D	D	−[9]	D	D
IV	*Yersinia*	+	−	+	+	30—37	−	D	−	−	+	−	D	−	−	−		+			−[7]		−	D	−	D	+	D
V	*(Erwinia)*	?	−	+	D	27—30	D	−	D	D		−	+	+[2]	−								D	−		D	+[8]	+[8]

D = reacţie diferită a speciilor sau serotipurilor din acelaşi gen (a genurilor din acelaşi trib);

[1] *S. gallinarum* este imobilă. [2] Unele s.t. pigment galben. [3] Excepţie *S. typhi* şi *S. parathyphi*. [4] *P. inconstans* = −. [5] < 10% tulpini de *P. mirabilis* = +. [6] *P. vulgaris* şi *P. mirabilis* = +; celelalte specii = − (idem pentru H_2S). [7] *Y. enterocolitica*, unele tulpini = +. [8] Unele serotipuri = +. [9] *P. rettgeri* = +. [10] *S. sonnei* = (+). [11] Unele s.t. = +. (...) = cuprind specii nepatogene.

7. STRUCTURA ANTIGENIC LA ENTEROBACTERIACEAE ŞI FACTORI DE PATOGENITATE (Tabel 56)

Toate enterobacteriaceele au *Ag de perete ,,R''* şi *,,O''*, cîteva serotipuri au şi Ag ,,Vi'', cel mai superficial ; cele mobile au *Ag. ciliare ,,H''** ; speciile capsulate au *Ag capsular ,,K''* ; unele au *Ag fimbrial* ; la cîteva specii se descriu toxine legate de corpul bacterian (*Escherichia*, *Shigella*, *Yersinia*).

a. ANTIGENUL FIMBRIAL (piliar)

Ag proteic, identificat la *Salmonella*, *Escherichia*, *Proteus*, *Klebsiella Shigella*, *Serratia*, insuficient studiat ; speciile fimbriate au variante nefimbriate. Este variabil ca structură şi imunogenitate de la gen la gen şi în sînul aceleiaşi specii. I se recunoaşte un important rol în virulenţă ca factor de adezivitate specifică la anumite epitelii, favorizînd colonizarea mucoasei ; *specificitatea fimbrii-receptor celular* ar explica tropismul categoric al unor enterobacterii pentru anumite zone ale intestinului : bacil dizenteric-colon.

b. ANTIGENUL ,,H'', CILIAR

Antigenul ciliar este proteic, rezistent la formol, denaturat prin încălzire în 20 min. la 100°C. Este foarte antigenic ; nu i se recunoaşte rol în virulenţă. Este foarte variat ca structură împărţind speciile şi serogrupele ,,O'' în numeroase serotipuri ,,H''. (Variante R lipsite de antigene ,,O'', ,,K'', ,,Vi'', pot avea antigene ,,H'').

c. ANTIGENUL ,,K'', CAPSULAR

Prezent la speciile capsulate *Klebsiella* şi *Escherichia* ; este polizaharidic, foarte variabil ca structură, de unde numărul mare de serotipuri ,,K'' ; realizează o mare suprafaţă acidă prin grupe carboxil libere la acidul N-acetil galactozo-aminuronic ; s-ar explica, şi astfel, *capacitatea antifagocitară* importantă a polizaharizilor capsulari şi *rolul lor în virulenţă*.

---

* Antigenele ,,O'' şi ,,H'' au fost descrise iniţial la *Proteus* : variantele neciliate de *Proteus* cresc pe geloză fără să formeze văl *(ohne Hauch)* avînd numai Ag somatice şi au fost numite ,,O'', spre deosebire de cele ciliate care cresc cu văl *(Hauch)* avînd şi Ag ciliar, numite ,,H''. ,,O'' a devenit nume generic pentru toate Ag de perete, responsabile de specificitate, prezente la toate bacteriile în fază S ; ele lipsesc la variante în fază R. ,,H'' a devenit nume generic pentru toate Ag ciliare.

d. ANTIGENUL ,,M'', MUCOID

(Spre deosebire de Ag ,,K'', polizaharid cu mare specificitate de serotip), antigenul ,,M'' este un Ag capsular polizaharidic comun (sau aproape) la enterobacteriaceele care formează colonii mucoide. După *Anderson* (v. *Lüderitz*), în condiții propice (concentrații mari de sare, temperatură joasă de cultivare), toate *Enterobacteriaceae*-le dezvoltă polizaharid ,,M''. (Variante defective de Ag ,,K'' pot avea Ag ,,M''). Rol (?)

e. ANTIGENUL ,,Vi'', de VIRULENȚĂ

Este cel mai superficial Ag de perete. A fost descris la *S. typhi*, *S. parathyphi C.*, *S. dublin* și la *Citrobacter* serotipurile O_5 și O_{29}, fiind identic la toate acestea. Este polizaharidic; poate fi prezent în cantitate mare (variante v = *viel*), sau mică (variante w = *wenig*); tulpini cu mult Ag ,,Vi'' nu sînt aglutinate de seruri anti- ,,O''. Numit încă de *Felix* Ag ,,Vi'' (de virulență), experimentări pe voluntari l-au confirmat ca atare, este antifagocitar: b. tific cu Ag ,,Vi'' rezistă la ingestia în PN și la digestie în macrofag neactivat imunologic; cu cît bacteria are mai mult Ag ,,Vi'', cu atît este mai virulentă; funcția antifagocitară este anulată de serul anti- ,,Vi''.

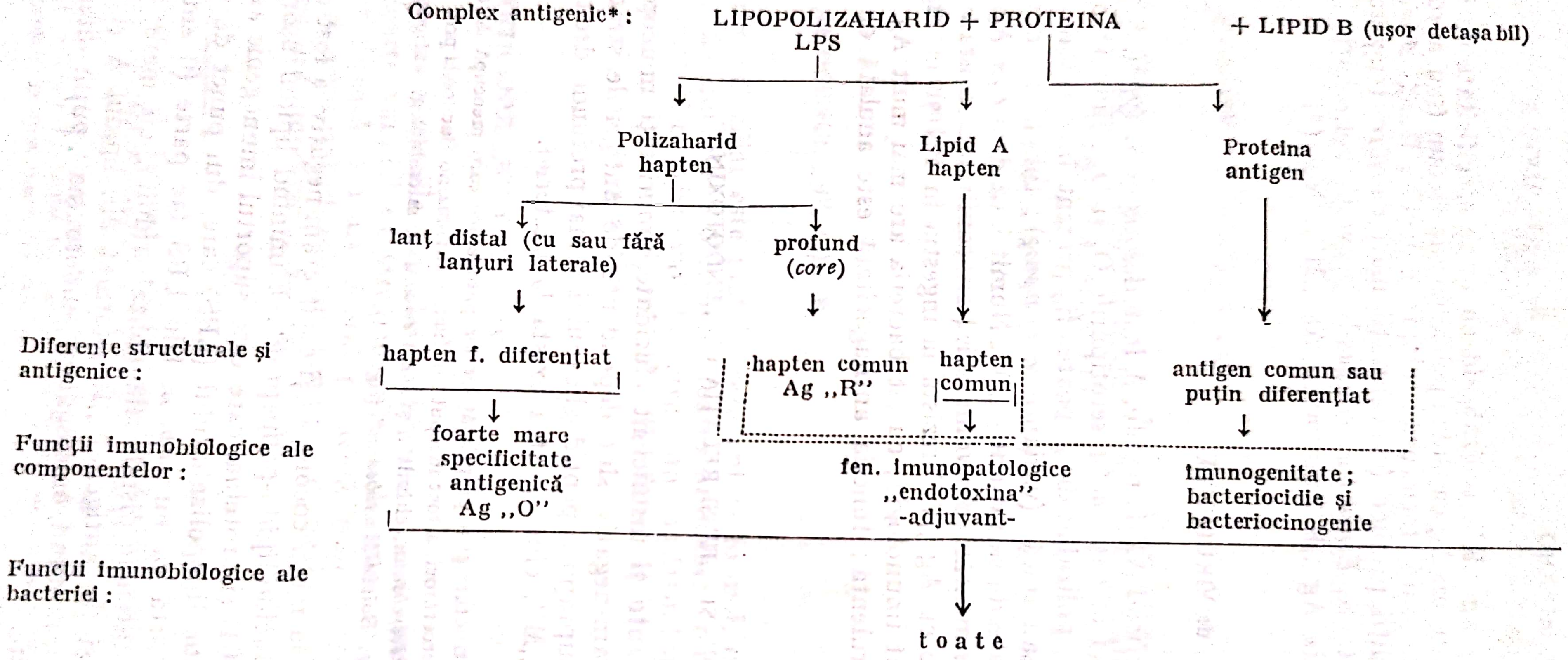
f. ANTIGENELE ,,O'' ȘI ,,R'' ȘI RELAȚIA CU ,,ENDOTOXINA''

Cele mai importante și insuficient elucidate proprietăți imunopatologice ale bacililor gram-negativ sînt dependente de antigenele straturilor speciale de perete (suprapuse peptidoglicanului și mai profunde decît antigenele ,,Vi'', ,,K'', ,,M'', cînd acestea există la bacterie).

Descifrarea acestor structuri și a proprietăților lor patogenice care preocupă de aproape 50 de ani mari grupe de cercetători, a fost începută în Inst. Cantacuzino București prin studiile lui *André Boivin*, *Lidia Mesrobeanu*, chimiști, și *Ion Mesrobeanu*, microbiolog, antigenul ,,O'' fiind numit adesea și ,,*Ag. Boivin-Mesrobeanu*'' (fig. 101).

La toți bacilii (și la mulți cocobacili și coci) gram-negativ, a fost descris un mare complex glucido-lipido-polipeptidic. Eliminînd lipidul ușor detașabil numit B (fig. 101) și proteina, care este suportul imunogenic al întregului complex, rămîne lipopolizaharidul (LPS) care, din punct de vedere imunologic, se comportă ca un *hapten*. Din LPS fac parte (i) antigenul ,,O'' reprezentat de catenele distale ale polizaharidului, cu mare specificitate imunologică, și (ii) antigenul ,,R'', format din lipidul A și miezul *(core)* polizaharidului, profund, omologat cu ,,endotoxina'', puțin diferențiat de la specie la specie.

Fig. 101 : Componentele stratului structurilor speciale de perete la bacteriile gram-negativ în variantă *smooth* și funcții imunobiologice ale „endotoxinei”


Complex antigenic* :
LIPOPOLIZAHARID + PROTEINA
LPS
+ LIPID B (ușor detașabil)
Polizaharid hapten
Lipid A hapten
Proteina antigen
lanț distal (cu sau fără lanțuri laterale)
profund (*core*)
Diferențe structurale și antigenice :
hapten f. diferențiat
hapten comun Ag „R”
hapten comun
antigen comun sau puțin diferențiat
Funcții imunobiologice ale componentelor :
foarte mare specificitate antigenică Ag „O”
fen. imunopatologice „endotoxina” -adjuvant-
imunogenitate ; bacteriocidie și bacteriocinogenie
Funcții imunobiologice ale bacteriei :
toate

(Actualizat, după *Westphal*, 1954)

---

*Complex antigenic glucido-lipido-polipeptidic (*A. Boivin, Lidia Mesrobeanu, Ion Mesrobeanu*, 1933).
Complex lipo-proteic (proteina conjugată) — polizaharid (*Goetel*, 1945) ;
Complex lipo-polizaharidic (LPS) (*Westphal*, 1952) ;
Componente : lipid-polizaharid-proteină (*Lüderitz* etc.).

Cu cît structurile care alcătuiesc acest mare complex sînt mai profunde, cu atît sînt şi mai puţin diferenţiate de la serotip la serotip—comune; cu cît sînt mai superficiale, sînt mai diferenţiate—specifice fiecărui serotip, împărţind enterobacteriaceele în multele serotipuri „O" (tabelul 52). Metodele de scindare-purificare au permis separarea celor trei componente *lipidul A**, *polizaharidul* şi *proteina*, ca şi obţinere de conjugate: *lipoproteină* (numită şi proteina conjugată sau LP) şi, cel mai frecvent, *lipopolizaharid* (LPS). Studii imunochimice şi imunobiologice, cu fiecare din acestea, comparativ cu suspensii de pereţi bacterieni purificaţi, de bacterii vii, sau omorîte, au dus treptat la precizări (fig. 101) privind funcţiile lor biologice şi imunopatologice:

(i) **Proteina**, Ag adevărat, deţine întreaga imunogenitate a complexului: oricare din celelalte componente (haptene) conjugate cu proteina devin la rîndul lor imunogene. Specificitatea antigenică a proteinelor de la diferitele specii este redusă, ele fiind similare dar, probabil, nu identice: (ar fi componente ale Ag comun; *Lüderitz* găseşte că activitatea bactericidă a speciilor cu *bacteriocine* este direct asociată proteinei şi a constatat unele diferenţe serologice între diferite colicine, dar nu şi chimice).

Bacteriocinele, factori cu rol de autoselectare: li se atribuie un important rol în iniţierea infecţiei: prin proprietatea cidă faţă de alte specii sau/şi tulpini din aceeaşi specie, tulpinile bacteriocinogene pot să-şi asigure dominaţia numerică în intestin, se *supraînmulţesc* exercitîndu-şi apoi, mai uşor, capacitatea de colonizare favorizată de pili şi/sau capsulă. *Deducţia practică* este că *evaluarea cantitativă a unei bacterii condiţionat patogene cu habitat intestinal drept criteriu pentru implicarea ca infectant nu este nejustificată.*

(ii) **Lipidul A** este un hapten, lipsit de antigenitate proprie, dar responsabil de fenomenele imunopatologice** ale complexului LPS în organismul imunizat de complexe cu proteină: lipoproteine (LP) sau de LPS + proteină. El este o structură comună la numeroşi bacili gram-negativ, aspect asupra căruia majoritatea cercetătorilor sînt de acord. Ca urmare, un organism imunizat de o bacterie gram-negativ, poate da răspunsuri imunologice de tip secundar, atît la LPS, cît şi la lipid sau lipoproteină provenite de la altă specie gram-negativ***. Lipidul în complex cu proteina, alcătuiesc un veritabil Ag comun (*Goetel*, 1945).

(iii) **Polizaharidul**. Se admite în prezent că polizaharidul din LPS are o *zonă comună nespecifică*, cea mai profundă, miezul *(core)* care se leagă de lipidul A prin intermediul KDO (acid 2-keto-3-deoxyoctonic), şi o *zonă superficială specifică* fiecărui serotip. Monozaharurile care alcătuiesc zona specifică sînt cu atît mai diferenţiate cu cît sînt mai distale şi au monozaharuri lateral ataşate în această porţiune: (în diferite poziţii unul sau mai multe, în care sînt posibile substituiri, deleţii, deci *variaţii*; la subgrupele A, B, D, E ale genului *Salmonella*, unele monozaharuri din

---

* Diferit de lipidul uşor detaşabil numit B (fig. 101).

** De proprietăţile toxice, după alţi cercetători.

*** Ceea ce reprezintă explicaţia fenomenelor *Sanarelli* şi *Schwartzman*.

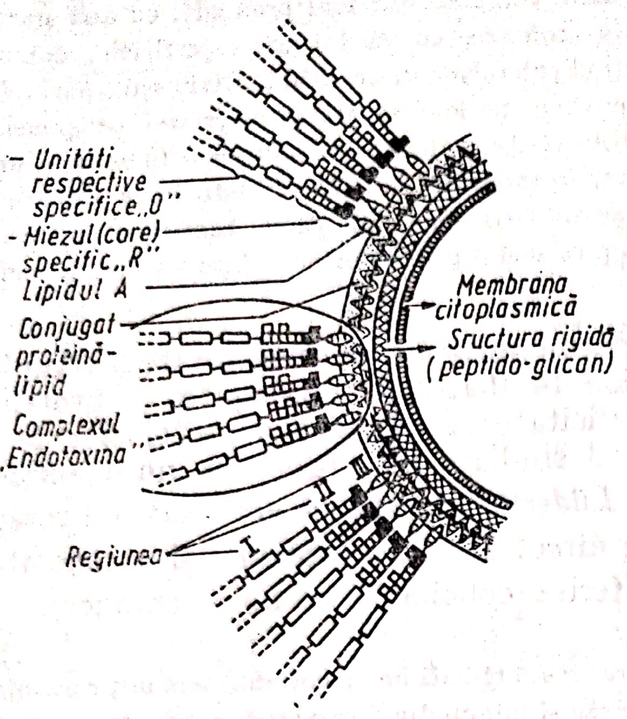

– Unități respective specifice „O"
- Miezul (core) specific „R"
Lipidul A
Conjugat proteină-lipid
Complexul „Endotoxina"
Regiunea
I
II
III
Membrana citoplasmică
Sructura rigidă (peptido-glican)

Fig. 102: *Salmonella*, perete celular, cu structura mai detaliată a lipopolizaharidului.

Regiunea I: unități cu specificitate O repetate. Regiunea II: miezul oligozaharidic cu specificitate R (*core*). Regiunea III: lipid A. (Numărul lanțurilor lipopolizaharidice în complexul endotoxinic este doar schițat).

lanțul distal sînt încă comune, diferențierile care imprimă specificitatea aparținînd numai catenelor laterale (fig. 102). Aceste zaharuri de specificitate sînt denumite după numele bacteriei: *tyveloză* la *S. typhi*, *paratoză* la *paratyphi*, *colitoză* la *coli*, *abequoză* la *S. abortus suis* etc. (fig. 103).

Antigenul „O" este identificat cu această zonă distală cea mai specifică și variabilă a lanțului polizaharidic; el face diferența între sutele de serogrupe „O"; este antigenul de mare specificitate, prezent numai la tulpini în faza *smooth*. *Kauffman* a confirmat identitatea serotipurilor „O" (diferențiate serologic) cu a chemotipurilor (diferențiate biochimic).

(*Complexul* LPS este, deci, alcătuit din lipidul A și polizaharid; el include atît antigenul „O", superficial, cu toate proprietățile de specificitate ale acestuia, cît și antigenul „R" profund.)

Antigenul „R" corespunde structurilor profunde și comune ale polizaharidului legate de lipidul A, prin KDO. El este prezent atît la variante *rough* cît și *smooth*, explică cele mai multe din reacțiile serologice încrucișate care au loc între aceste bacterii (tabel 53). Prin *rough*-izare are loc pierderea treptată a monozaharurilor începînd cu cele mai superficiale („Vi", „O") rămînînd complexul „R"; se descriu astfel grade de *rough*-izare (R_a, R_b etc.); prin definiție, mutanții lipsiți de specificitate „O" sînt numiți variante „R" (fig. 104). (Variante lipsite de Ag „O" pot avea Ag „K" sau „M" și pot da colonii *smooth* sau mucoide).

De această structură profundă a complexului LPS este legată activitatea endotoxinică a bacteriilor gram-negativ:

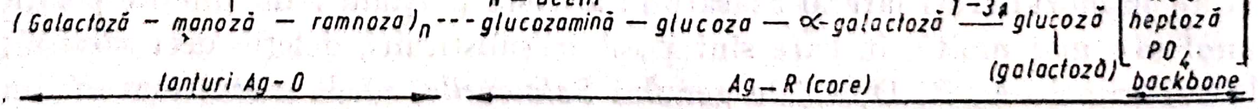

Abequoză
(Galactoză – manoză – ramnoza)n---
N – acetil glucozamină – glucoza – ∝-galactoză
1–3
glucoză
(galactoză)
KDO
heptoză
PO4
lanțuri Ag - O
Ag – R (core)
backbone

Fig. 103: Polizaharidul de *S. typhimurium*:

antigenul „R" este alcătuit numai din miez (*core*), în timp ce antigenul „O" complet include și lanțurile distale de Ag „O". KDO = keto-deoxoctulonat prin care polizaharidul se crede că este legat glicozidic la lipoidul A al lipopolizaharidului (din *B.D. Davis* și colab. „Microbiology", 1970).

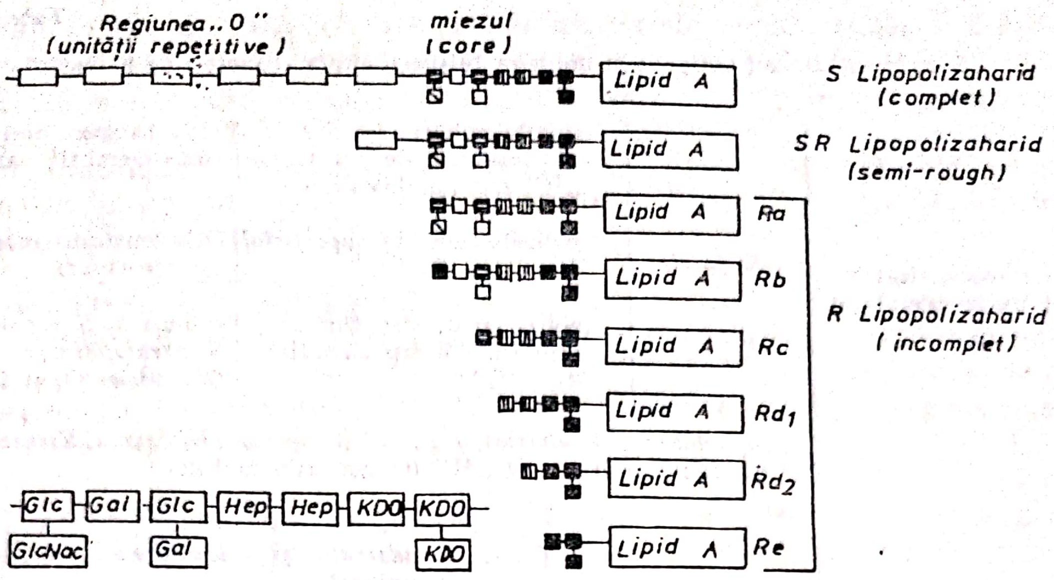


Fig. 104: Structura miezului (*core*) și a R-mutanților $R_a - R_e$.

Fenomene la ,,endotoxină" (,,E"), Reacții tip ,,endotoxină" identice cu acelea din infecții cu bacili gram-negativ, pot fi obținute experimental cu bacili omorîți, atît variante ,,S" cît și ,,R", cu pereți celulari, cu complexul mare glucidolipidopolipeptidic, cu lipoproteina, cu lipopolizaharidul și cu lipidul (*Westphal*, 1975) oricărei specii gram-negativ; fracțiunea comună a acestor factori este lipidul sau lipidul + porțiunea profundă a polizaharidului *(core)*, numit ,,endotoxină".

Fenomenele la ,,E" au fost descrise în clinică înainte de descoperirea primului bacil gram-negativ, a descrierii fenomenelor experimentale de către *Sanarelli* (1922 — 1924) și *Schwartzman* (1936) și a descoperirii substratului chimic de către *Boivin* și *Mesrobeanu* (1932), *Westphal*, *Lüderitz*.

Caracterul clinic al fenomenului la ,,E" variază cu calea de pătrundere a bacteriei (intestin subțire, colon, plagă uterină, peritoneu, pulmon, bacteriemie-septicemie); se descriu:

(i) **fenomene sistemice** tip *anafilactic* (I) și mai ales tip *boala serului* (III a), prin complexe toxice (*Gewurtz* a demonstrat că participarea C′ la reacțiile inflamatorii mediate de Ac este esențială; *Chedid* și *Parant* afirmă că ,,hipersensitivitatea față de endotoxine a putut fi stabilită", *Bacterial Toxins*, vol. V, *Bact. Endotoxin*); aceste fenomene sînt încadrate clinic sub variate denumiri:

— ,,șoc endotoxinic", ,,șoc prin gram-negativi", ,,șoc septic", cînd apar în timpul unei bacteriemii-septicemii (cap. XX, p. 270);

— ,,șoc pirogenic" sau ,,șoc medicamentos", cînd apar după perfuzii ,,E" injectată i. v. odată cu soluții sterile intens contaminate cu bacili gram-negativ anterior sterilizării, ca în experiment; (v. cap. V, B, 5.);

— reacții tip ,,*Herzheimer*" sau ,,*Järisch-Herzheimer*", cînd ,,E" este eliberată brusc ca urmare a bacteriolizei masive prin antibioticoterapie;

— reacție ,,*tip Sanarelli*" etc.

Tabelul 56

***Enterobacteriaceae*, antigene și haptene de specificitate și factori de patogenitate**

- Ag
  - de specificitate* (structuri celulare)
    - *de perete*
      - lipopolizaharizi, *Ag* profund, de perete, „R" sau „endotoxina" — comun sau similar la toți membrii familiei
      - polizaharizi, *Ag superficial* de perete „O" — diferențiază serogrupe și serotipuri
      - polizaharid, structură superficială, tip capsular, Ag „Vi" — comun la *S. typhi*, *S. paratyphi C*, *Citrobacter* O_5 și O_{29}
    - *capsulare:* polizaharizi, Ag „K" (la speciile *Klebsiella, Escherichia*)
    - *ciliare:* proteine, Ag „H" (la genurile mobile)
  - de patogenitate
    - factori *celulari*
      - f. de *aderență* și *colonizare* a mucoaselor: Ag fimbrial
      - f. *antifagocitari*
        - Ag „K"
        - Ag „Vi"
        - Ag „O"
      - f. de *sensibilizare:* „endotoxina" (Ag „R")
      - *toxine* (probabil legate de corpul bacteriei)
        - *Sh. dysenteriae 1* (neurotoxină)
        - *Y. pestis* (necrozantă)
        - *Escherichia* (?)
    - factori *secretați* (?)

---

* Un serotip este caracterizat de prezența în structura sa a unuia sau mai multor Ag „O", de unul sau mai multe Ag „H" sau/și Ag „K" (de obicei unul, rar doi). *Speciile* care posedă și Ag „O" și „H" sau/și „K", sînt împărțite pe baza antigenelor „O" în *serogrupe* „O", iar pe baza antigenelor „H", „K", în *serotipuri*; variantele sînt nelipsite.

(ii) **fenomene necrozante locale**, tip patogenetic *Arthus* (III b) și/sau celular (tip IV); reacția are loc mai ales la poarta de intrare (uter, *lamina propria* din mucoasa colonului și plăcile *Peyer*, pulmon), sau diseminate în sediile limfoide în care au ajuns bacilii gram-negativ; astfel de manifestări sînt raportate în clinică cel mai adesea ca „*tip Schwartzman*".

(Justificări privind încadrarea sindroamelor prin „E" ca fenomene de sensibilizare sînt date și în cap. XX)*.

Complexul LPS legat de bacterie, induce apariția de Ig față de toate haptenele componente, care pot media reacții de sensibilizare tip imediat;

---

* Adăugăm că *Dubos*, *Schaedler*, *Wolf*, *Eisnes* și alți cercetători moderni subliniază că „acele procese... în care agentul activ este o endotoxină, duc la supersensibilizare".. „multe din activitățile endotoxinei bacililor gram-negativ pot fi atribuite reacțiilor alergice celulare *mai degrabă decît vreunei activități toxice directe a însăși substanței*" (*Gell* și *Coombs*, p. 1 295, ediția 1968), — fig. 75.

speciile facultativ intracelulare ca *Salmonella* sînt specializate și în a determina imunitate și fenomene imunopatologice mediate celular.

Deoarece copilul se naște cu IgG materne, iar primele Ag bacteriene cu care sistemul său imunocompetent face experiență sînt și ,,endotoxine'', omul și animalele sînt continuu sensibilizate la haptenele comune; contacte parenterale (ca în infecții) pot determina ,,*booster*''-efecte în Ac, creînd posibilitatea apariției de fenomene imunopatologice.

Frecvența fenomenelor de sensibilizare la ,,E'': (i) ele complică adesea infecțiile cu bacili gram-negativ*; (ii) sînt declanșate de terapia antibacteriană intensivă; (iii) determină reacții locale (inflamații, adenopatii) și febră, postvaccinale; (iv) pot apărea independent de infecție (ca șoc pirogenic medicamentos); pot evolua ca fenomene generale (șoc ,,endotoxinic'') sau locale (inflamatorii, necrotice).

Terapia fenomenelor la ,,endotoxină''. În acest scop, rămîne de precizat definitiv dacă ,,endotoxinele'' sînt numai factori de sensibilizare, sau posedă și toxicitate primară (toxice în organism lipsit de Ac anti-,,endotoxină''). Astfel de elucidări impun experimente pe animale *germ-free* și *antigen-free*; ele ar reprezenta suportul științific al bunelor rezultate obținute în profilaxia și terapia diferitelor fenomene patologice prin ,,E'' prin asocierea de glucosteroizi, și al unei terapii real patogenetică a șocului ,,endotoxinic'': antitoxică sau/și antialergică (fig. 75).

Unii terapeuți recomandă în formele grave toxemice asocierea la antibioterapie a salicilaților, glucosteroizilor (prednison, 1 mg/kgcorp, 4 zile, după *Hook* și *Johnson* ,,*Infectious Diseases*'', *Hoeprich Edit.*, 1972, și după ,,*Manual of Medical Therapeutics*'', *Rosenfeld* Edit., XXth ed., 1972); *Hooch* și *Johnson* recomandă aspirina (0,3 g la 4 ore, timp de 1 zi) pentru prevenirea reacțiilor postvaccinale la vaccin TAB etc.

Alte Ag de perete

Printre multele Ag descrise în timp la *Enterobacteriaceae*, a reținut atenția ,,antigenul comun'' al lui *Kunin*: (eliberat prin încălzire la 100°C timp de 1 oră, reacționează în special în hemaglutinare cu serul anti-*E. coli* O_{14}. Nu este precizată exact relația acestui Ag cu complexul glucido-lipidopolipeptidic). Este polizaharidic.

8. DIAGNOSTICUL INFECȚIILOR CU ENTEROBACTERIACEAE

a. *DIAGNOSTICUL MICROBIOLOGIC*

Izolarea și identificarea bacteriei infectante.

Este singura metodă care permite stabilirea etiologiei acestor sindroame infecțioase polietiologice și este de mare valoare în laboratorul clinic și epidemiologic:

---

* După *Hoeprich*, șocul endotoxinic apare la 25% din bolnavii cu infecții date de bacili gram-negativ (aerobi-facultativ anaerobi și anaerobi) și din aceștia 50—80% mor în șoc.

(i) *În* **laboratorul clinic de microbiologie** *(în scop terapeutic)* se urmărește:

— diagnostic precoce, anterior începerii terapiei;

— efectuarea antibiogramei (foarte necesară, cunoscînd marea variație de sensibilitate la A și Ch în sînul acestei familii).

În aceste scopuri, valoroase sînt metodele cît mai rapide:

În infecțiile enterice se practică 2—3 *coproculturi*; în cele febrile se fac concomitent și *hemoculturi*. În suspiciuni de febre tifoide, se recurge uneori și la biliculturi (mai greu de recoltat), meduloculturi (dacă se recoltează 2—3 hemoculturi și coproculturi, medulocultura nu mai este necesară) și uroculturi (dau rareori rezultate pozitive).

În toxiinfecțiile alimentare diagnosticul se pune pe baza izolării agentului din aliment, vărsături sau/și din scaun.

În infecții cu Enterobacteriaceae condiționat patogene se folosesc, după caz, *uroculturi* în ITU, date mai ales de *E. coli*; *examenul l. c. r.* în meningite; *examenul puroiului din seroase* în peritonite, pleurite, artrite; *sputoculturi* etc.

Criteriile de implicare etiologică sînt cele generale (cap. XIV):

— prezența unei bacterii înalt patogenă *la bolnav* (tabel 54), indiferent de cantitatea și produsul din care a fost izolată, este criteriul suficient pentru implicarea ei ca infectant;

— demonstrarea prezenței oricărei specii în orice produs normal steril este raportată și suficientă pentru implicarea ei ca infectant (în cazul condiționat și accidental patogenilor, medicul de laborator aplică criterii speciale pentru a se convinge că bacteria nu este un contaminant întîmplător al mediului de cultură, cum sînt, prezența bacteriei și în examenul microscopic al produsului patologic, sau reizolarea);

— prezența unui condiționat patogen în produse natural supracontaminate necesită criterii cantitative de interpretare — predominanță în produsul patologic, posibile pe baza metodelor cantitative sau semicantitative de însămînțare: uroculturi, sputoculturi (fig. 79).

(ii) *În* **laboratorul epidemiologic, de microbiologie** se urmărește depistarea și controlul surselor de infecție (animale, umane, alimente, ape) prin identificarea tulpinei (biotip, serotip, lizotip, bacteriocinotip, identic), făcînd posibilă stabilirea filiației cazurilor de îmbolnăvire și luarea măsurilor adecvate de profilaxie (privind sursa și căile de transmitere). Lizotiparea a fost pusă la punct de specialiștii din Inst. Cantacuzino București pentru *S. typhi* „Vi”, aproximativ 97 lizotipuri, *S. paratyphi B*, *S. typhimurium*, *S. panama* și *S. anatum* (fig. 105).

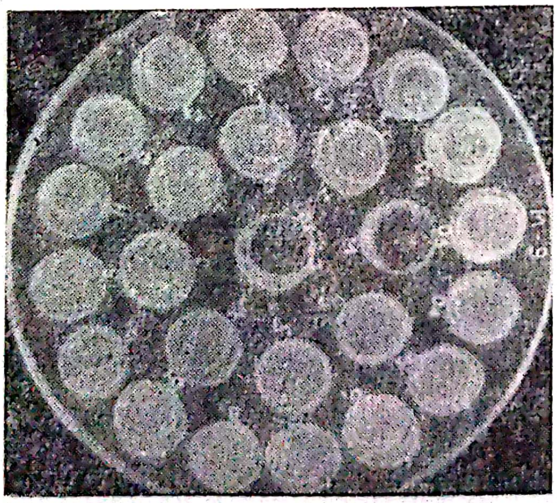


Fig. 105: Lizotipare la *Salmonella typhi* (după Thompson, 1958).

În „infecții de spital”, o valoare deosebită are antibioticotiparea pe *set* cît mai mare de A și Ch, prin faptul că poate fi efectuată de medicul de laborator clinic, concomitent cu antibiograma necesară terapiei, adică rapid, şi stabilirea tipului biochimic (celelalte teste pentru identificarea de tulpină, nefiindu-i încă accesibile şi nici foarte necesare).

Diagnosticul microbiologic dă rezultate bune numai cînd, în clinică, şi în teren, sînt respectate (i) modul de recoltare, (ii) recoltarea înainte de administrarea de A Ch (iii) indicaţiile de transport, iar (iv) laboratorul are medii bune şi (v) foloseşte metodele corecte recomandate şi reînnoite periodic de specialiştii din Secţia *Enterobacteriaceae* din I. C.

Identificare. Un bacil gram-negativ, care creşte pe medii simple, fermentează glucoza, transformă nitraţii în nitriţi, este catalază-pozitiv, oxidază-negativ, este un membru al familiei *Enterobacteriaceae.*

Stabilirea tribului şi a genului se face biochimic (tabel 55) ; confirmarea genului se face serologic, folosind seruri specifice de gen. Stabilirea serogrupului şi serotipului se face conform formulelor antigenice caracteristice (exemplu tabel 59) : o enterobacterie care nu fermentează lactoza, este mobilă, dă colonii rotunde S, indol-negativă, poate fi un serotip *Salmonella.* Pentru confirmare, coloniile sînt aglutinate pe lamă, cu serurile corespunzătoare principalelor serogrupe ,,O" : A, B, C, D, E şi, concomitent, cu ser anti-,,Vi" (tulpinile pozitive pentru ,,Vi" pot fi inaglutinabile O).

b. *SERODIAGNOSTICUL (SD)*

Din infecţiile date de miile de tipuri, SD permite doar diagnosticul febrelor tifoide :

(i) *În scop terapeutic SD este tardiv*, retrospectiv, şi, în plus, greu de interpretat datorită vaccinării de masă antitifoparatifice, a terapiilor precoce cu A. (adesea necunoscute de medic, a prezenţei anticorpilor zişi ,,naturali" la orice individ, datoraţi imunizărilor oculte faţă de numeroasele componente antigenice comune (,,R", ,,O", ,,H", ,,Kunin"). De aceea, în laboratorul clinic, SD se foloseşte numai în suspiciuni de febre tifoide în care bacteria nu a putut fi izolată (ceea ce este posibil dacă nu au fost respectate regulile de recoltare, transport, medii, metodele, sau nu există microbiolog, situaţie tot mai frecventă). Rezultatul SD este luat în consideraţie numai dacă a fost lucrat în dinamică pe două seruri (primul recoltat la depistarea bolnavului, al doilea, după minimum 7 zile).

Se folosesc reacţii de aglutinare cu Ag ,,O" şi ,,H" de *S. typhi, paratyphi* A, B şi C.

Dinamica Ac : de la sfîrşitul primului septenar de boală apar Ig anti-O şi anti-H ; mai tîrziu apar şi anti-Vi ; cresc atîta timp cît durează infecţia (în raport de terapie) şi Ag-ul este prezent în organism ; se menţin în platou cîteva săptămîni şi scad apoi treptat, dar nu complet.

Datorită prezenţei aproape constante a Ac zişi ,,naturali", sînt luate în consideraţie numai reacţiile în care titrul Ac în al doilea ser este de cel puţin 4 ori mai mare decît în primul ser.

(ii) *În scop epidemiologic, SD permite aprecierea, aproximativă, a nivelului de imunizare postvaccinală* cu vaccin antitifoparatific (TAB).

9. SENSIBILITATEA LA ANTIBIOTICE (A)
ŞI CHIMIOTERAPEUTICE (Ch)

Enterobacteriaceele, ca şi alţi bacili gram-negativ, sînt natural sensibile la toate A cu spectru larg (tabel 19), la polimixine, sulfamide, acid nalidixic, nitrofurani, trimetoprim, cotrimoxazol ; ele dobîndesc însă cu mare uşurinţă monorezistenţă (R) prin mecanisme de recombinare cromozomială şi mutaţii, dar mai ales multirezistenţă prin transfer în fR plasmidic, cu mare circulaţie între toate speciile acestei mari familii şi la alţi gram-negativ (cap. X).

Au fost puşi în evidenţă fR cu *pattern*-uri diferite de rezistenţă : există tulpini rezistente la practic toate A clasice, inclusiv gentamicină (G) : rezistenţa salmonelelor la G, trimetoprim, contrimoxazol nu mai este foarte rară; au fost izolate tulpini *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Escherichia*, *Salmonella* cu rezistenţă prin fR la ampicilin, piopen, Ceph., C, G, K/N, sisomicin, S, Su, T şi spectinomicină, dar sensibile la amikocin, tobramicin şi AN (*Davey* et al., 1977), (v. cap. IX). *Chabbert* şi *Wichitz* (citaţi de *Acar*, *Bouchanchad*) au elaborat noţiunea de ,,epidemie de fR plasmidic'' : în cîteva ore, milioane de bacterii din populaţii receptive (din intestin) devin purtătoare de fR.

Consecinţa logică a acestui fenomen, circulaţia fR, este că terapiile cu asociaţii de A *lărgesc considerabil, spectrul de R la A* ; *se recomandă numai monoterapii pe bază de antibiogramă, cu reconstituire concomitentă a florei lactobacilare intestinale* (din ce în ce mai mult se folosesc caşete, care depăşesc stomacul şi populează intestinul cu minimum 250 milioane *Lactobacillus*, concomitent cu fiecare priză de A).

(La izolarea unui b. gram-negativ sigur infectant, *sarcina ,,laboratorului clinic de microbiologie'' este ca prin antibiogramă să indice antibioticele active, in vitro.*)

O oarecare excepţie din acest punct de vedere fac speciile *S. typhi* şi *paratyphi B* cu sensibilitate ceva mai stabilă la A*; prima tulpină de *S. typhi* cu multirezistenţă inclusiv cloramfenicol şi ampicilină, prin fR, a fost izolată abia în 1972.

10. PROFILAXIA INFECŢIILOR CU ENTEROBACTERIACEAE

a) **Metode nespecifice de profilaxie.** Metodele nespecifice de profilaxie dau cele mai bune rezultate în toate infecţiile şi mai ales în cele prin microorganisme cu habitat şi/sau eliminare intestinală (bacterii, protozoare, virusuri, paraziţi mari) ; ele au ca scop întreruperea transferului *fecal-oral*. Fecalele bolnavilor şi purtătorilor reprezintă principala *sursă*, apa, mîinile murdare şi muştele, principalele *căi de transmitere* (tabelele 8, 9, 10).

(i) *Măsuri colective*

— educaţie, începînd cu preşcolarii, privind măsurile simple de sanitaţie, spălarea mîinilor după folosirea WC-urilor şi a hîrtiei igienice şi înainte de fiecare masă ; folosirea corectă a WC-urilor şi dezinfecţia lor ; (enterobacterii şi enterovirusuri sînt prezente în mare număr pe pardoseala din jurul WC-urilor folosite de bolnavi şi purtători sănătoşi, aşa cum au demonstrat într-un studiu recent *Melnick* şi colab. ; pe mîini murdare, bacilii dizenterici persistă aproximativ 3 ore, celelalte specii persistă mai mult) ;

— asigurarea apei potabile şi de spălare în centrele populate ;

---

* *Y. pestis*, bacterie cu habitat la animal sălbatic, nu şi-a modificat sensibilitatea naturală la A şi Ch.

— asigurarea evacuării igienice a dejectelor; elaborare de proiecte precise privind construirea latrinelor cu autopurificare în centrele fără canalizare, şi difuzarea lor la sate; interzicerea apelor fecalo-menajere pentru irigare (WHO Gr., *32*, 10, 371, 1978);

— dezmuştizare şi deratizare înverşunată;

— măsuri severe de igienă în toate unităţile de prelucrare şi distribuire a alimentelor, cu excluderea purtătorilor sănătoşi pînă la debarasarea de bacteria patogenă; autoclavare (conserve), fierbere, pasteurizare, după caz (aceste bacterii mor în 60 min. la 55°C, în 15—20 min. la 60°C, imediat la fierbere); spălare riguroasă a legumelor care sînt consumate crude, salate mai ales;

— riguroasă igienă de spital; izolarea bolnavilor pînă la debarasarea de bacteria periculoasă, pentru întreruperea intercontaminărilor fecal-orale (care sînt la originea ,,exploziilor epidemice de spital'', mai ales în servicii de pediatrie, imaturi, sugari, maternităţi);

— izolarea preventivă a marilor vulnerabili în spitale prin metode clasice şi speciale (fig. 35, 37).

(ii) *Măsuri individuale (autoprotecţia)*

Fiecare individ se poate proteja singur împotriva infecţiilor enterice, păstrînd o riguroasă igienă a mîinilor, consumînd apă fiartă în zone endemice şi mai ales epidemice, prin corectă prelucrare termică a alimentelor.

b) **Vaccinarea.** Încă nu există vaccinuri foarte bune faţă de bacilii gram-negativ intestinali; singurul utilizat, vaccinul omorît injectabil antitifoparatific (TAB), dă rezultate imunizante mediocre, în schimb dă reacţii importante de sensibilizare la ,,endotoxină'', locale şi generale, fiind greu acceptat de populaţii.

Există date experimentale că (i) vaccinarea porţii de intrare* (în aceste infecţii mucoasa intestinală) este esenţială în imunizare (OMS, *Techn. Rep. Ser.*, nr. 414), cu condiţia ca vaccinul (viu sau omorît) să depăşească bariera gastrică; (ii) în infecţii date de b. f. i. *(Salmonella)*, ca şi în alte infecţii date de astfel de bacterii *(Myc. tuberculosis)*, vaccinurile vii sînt mai eficiente; (iii) în infecţii date de bacterii cu toxine *(S. Shiga, Y. pestis*, ca şi *V. cholerae)* este obligatorie şi imunizarea parenterală cu toxină. Astfel de vaccinuri sînt în experimente.

Avînd în vedere morbiditatea foarte mare prin infecţii date de aceste bacterii şi faptul că măsurile nespecifice colective sînt încă costisitoare, OMS recomandă ,,à être attaqué sous l'angle immunologique'', încurajînd studii pentru obţinerea de vaccinuri şi faţă de specii condiţionat patogene, *Klebsiella, Serratia* etc.: (,,*Summary reports on meetings*'', 1975) etc.

În scopul obţinerii de bune vaccinuri, de o mare importanţă sînt în primul rînd studiile privind factorii de virulenţă şi toxinele, care, obligatoriu, trebuie să facă parte din vaccin, alături de metode de eliminare a factorului sensibilizant, reactogen, ,,endotoxina''.

---

* În infecţiile respiratorii este necesară imunizarea şi a mucoasei şi epiteliului respirator; în infecţii genitale se recomandă şi imunizarea la poarta de intrare.

A. GENUL ESCHERICHIA
(Escherich, 1885)

Genul *Escherichia* are o singură specie, *E. coli*, cu 163 serogrupe „O" (cunoscute), diferențiate în numeroase serotipuri în baza a 60 Ag „H" și peste 90 Ag „K", denumite generic *colibacili*. Face parte din flora constantă a colonului la om și animale, 5—10 serotipuri, unele rezidente, altele temporare, fiind concomitent prezente (de unde numele mai vechi de *Coli communis*). Contaminează constant regiunea perianală, vagin, uretra anterioară, mîinile și mediul extern (identificarea colibacililor în apă, alimente, este astfel indicator de poluare fecală, folosit ca test în supravegherea sanitară a acestora). Este specia condiționat patogenă care dă cele mai multe din infecțiile de spital, mai ales ITU.

Bacili de 2—6/1—1,5 µm, singuri sau în perechi (forme filamentoase de 6—10 µm în culturi vechi), mobili (2—6 cili peritrichi) cu variante imobile, capsulate (de la capsule vizibile pînă la microcapsule) cu variante necapsulate; multe tulpini sînt fimbriate.

Cultivă abundent pe medii simple degajînd miros fecaloid caracteristic; dau colonii M, S și R.

Sînt mult mai sensibili decît *Salmonella* și *Shigella* la acțiunea bacteriostatică a anumitor concentrații de bilă și săruri biliare, verde brillant, săruri de selenit, tetrationat, substanțe în baza cărora se prepară medii de izolare pentru *Salmonella—Shigella* pe care creșterea colibacililor este mult inhibată.

Fermentează lactoza și multe alte zaharuri cu producere de gaz, produc indol, nu lichefiază gelatina, nu produc H_2S, nu desfac ureea, nu folosesc citrat ca unică sursă de C, dar folosesc acetat. Variantele biochimice sînt numeroase (tulpini care nu fermentează lactoza deloc sau tîrziu, care produc H_2S* etc.). În afara caracterelor biochimice comune genului (tabel 55), colibacilii posedă și caractere pe baza cărora au fost diferențiate biotipuri.

1. STRUCTURĂ ANTIGENICĂ ȘI FACTORI DE PATOGENITATE

a. Antigene de specificitate

E. coli este foarte heterogenă antigenic; se cunosc:

163 Ag „O" care diferențiază specia în tot atîtea serogrupe notate 1—163; serurile respective de diagnostic identifică, prin reacție de aglutinare, cam 90% din tulpinile izolate la om (în zona temperată);

*90 Ag „K"***, polizaharide termostabile, în cantitate mare maschează determinanții „O", mai profunzi; (Ag-ele „K" sînt împărțite în 3 grupe, „K" A care formează capsule adevărate, mari și vizibile, „K" B și „K" L formează microcapsule; formarea capsulei ar fi pusă mai bine în evidență prin cultivare la 15°—20°C; (după *Vahlne*, v. *Lüderitz*, cele mai multe tulpini izolate din produse patologice (ITU-peritonite), au capsule, multe tulpini dau colonii mucoide prin formare de Ag-,,M'';

---

* Astfel de amănunte apar necesar să figureze într-un manual, datorită tendinței unor practicieni de laborator de a absolutiza valoarea taxonomică a unor caractere supuse, totuși, variației.

** Un antigen K al serotipului *E. coli* K_{88} este o proteină (probabil fimbrială).

60 Ag ,,H'', proteine (fără variație de fază ca la *Salmonella*);

antigenul piliar, numit și *Ag K proteic*, ar avea specificitate de gazdă: (Ag K_{88} caracterizează tulpinile care dau diareea purceilor, K_{99} este prezent la tulpini care dau diareea vițeilor, un Ag similar ar caracteriza tulpini enteropatogene umane).

Antigenele ,,K'' și ,,H'' împart serogrupele ,,O'' în numeroase serotipuri; *pattern*-ul antigenic al unui serotip este definit de prezența a cîte unui Ag ,,O'', ,,K'' și ,,H''; exemplu, *E. coli*, O_{111}, K_{50}, H_2; unele tulpini au și Ag ,,K'' proteic (K_{88}, K_{99}), piliar.

b. Factori de patogenitate și serotipuri enteropatogene

Există tulpini de *E. coli* defective, nepatogene (ca tulpina numită K_{12}, fără a avea antigen capsular), tulpini dotate cu toți factorii de patogenitate caracteristici speciei și tulpini dotate cu unii din aceștia în asociații foarte diferite.

Astfel de tulpini, în cazul contaminării intestinului cu număr foarte mare de bacterii, pot genera *enterite grave*, mai ales la sugar, copil și la adultul vulnerabil și *infecții extraintestinale*, cînd contaminează zone natural sterile ale organismului (ITU, infecții pulmonare, meningite, infectarea plăgilor, septicemii-bacteriemii).

Tulpinile patogene sînt dotate cu *factori de virulență*, tot mai bine cunoscuți, iar după unii cercetători unele tulpini ar produce și *enterotoxine**, factori codificați de gene cromozomiale sau plasmide; toate tulpinile posedă ,,*endotoxină*''.

(i) *Factorii de virulență* asigură proliferarea în lumenul intestinal, colonizarea mucoasei intestinale și a altor mucoase și invazia țesuturilor:

— *colicinele sînt factori de autoselectare* în intestinul subțire prin eliminarea altor serotipuri și chiar specii înrudite; tulpinile dotate cu plasmidul *Col V* (produc colicina V, bactericidă pentru mulți bacili enterici care nu-l posedă) își asigură proliferarea liberă în lumenul intestinal devenind dominante (*Bruce Kline*, 1976);

— *pilii sînt factori de aderență specifică* la celula epitelială a colonului și inițiază colonizarea la acest nivel; tulpinile care dau diaree holeriformă ar adera la mucoasa jejunului; (pentru tulpinile K_{88} și K_{99} este demonstrat că producerea proteinei piliare este codificată de un plasmid; OMS, 1972; tulpinile fimbriate sînt și hemaglutinante pentru eritrocite de om în prezența D-manozei);

— *capsula polizaharidică sau Ag ,,K''* și pilii reprezintă *factori antifagocitari* care favorizează invazia mucoasei intestinale și a altor țesuturi; (cei mai mulți polizaharizi au reacție acidă);

— *antigenul ,,O''* ar avea de asemenea rol antifagocitar (ca la *Salmonella*);

— *hemolizina*, produsă de unele tulpini este factor citotoxic (codificat de un plasmid)

---

* ,,Dar, cînd o tulpină de *E. coli* K_{12} poartă gena care codifică această toxină, ea nu este capabilă să producă boala diareică în intestin de animal'' (*R. Freter*, *J. Inf. Dis.*, *137*, 5, p. 624, 1978).

Tulpini enteropatogene dotate cu astfel de factori sînt invazive, potențial demonstrat prin diferite *teste de virulență*: test de hemaglutinare; omorîrea embrionului de găină de 13 zile injectat intraalantoidian; testul de invadare a celulelor epiteliului cornean la cobai cu producerea unei kerato-conjunctivite (testul *Serény*); test de hemoliză.

Deoarece dau cel mai adesea sindroame enterice sînt numite generic *enteropatogene*. A fost făcută asocierea între anumite serotipuri și potențialul enteropatogenic; dar, numărul tipurilor antigenice demonstrate ca enteropatogene prin capacitatea de a genera izbucniri epidemice, mai ales la sugar și copil, crește continuu; de aceea, noțiunea de *tulpini enteropatogene* pare mai adecvată.

(ii) *Enterotoxine*; unii cercetători consideră demonstrată existența unei exotoxine enterotoxice la tulpini porcine (codificată, la tipul porcin K_{88}, de un plasmid numit *Ent*); alții consideră că tulpinile enteropatogene eliberează două enterotoxine, una *termostabilă* (ST), responsabilă de enterita dizenteriformă, și alta *termolabilă* (LT), responsabilă de diareea holeriformă, care ar funcționa prin același mecanism ca și toxina vibrionului holeric; unele tulpini ar produce una, altele ar produce ambele toxine (*Whip* și *Moon*, 1972). Mulți cercetători se îndoiesc însă[*]. Dealtfel, majoritatea acestor experimentări au fost făcute deocamdată cu filtrate brute din care nu lipsesc cantități mari de „endotoxină". Dacă există tulpini producătoare a unei reale toxine[**], rămîne de cercetat. Testele actuale pentru enterotoxicitate nu sînt fidele.

(iii) „*Endotoxina*" este prezentă la orice tulpină și se eliberează în cantități mari în mucoase infectate în care bacteria se supraînmulțește, în sînge și în alte țesuturi, putînd genera fenomene locale și sistemice descrise pentru toate „endotoxinele" indiferent de bacteria producătoare (cap. XX).

Prezența tulpinilor enteropatogene nu este suficientă însă pentru a explica implicarea etiologică; *în colon* ele sînt prezente și la sugarul sănătos; la bolnav însă, tulpina enteropatogenă este dominantă în *jejun-ileon*. Pentru a ajunge la acest nivel sînt necesare condiții speciale și *E. coli* este prin excelență o bacterie oportunistă, cu patogenitate condiționată: condiții care îi permit să ajungă și să prolifereze pe mucoase normal sterile din vecinătatea colonului, în intestinul subțire, dînd enterite (și în tractus urinar, dînd ITU).

---

[*] *Gross, Scotland* și *Rowe* (1976), după ce au studiat tulpinile care au dat 6 epidemii, consideră că testele recomandate pentru evidențierea entero-*toxigenității* „nu demonstrează producerea de enterotoxină de către astfel de tulpini epidemice" și că „sînt de mică valoare în recunoașterea tulpinilor de *E. coli*, cauzînd enterite infantile epidemice în Anglia, cel puțin".

Kenworthy (1974) după experiențe pe purcei gnotobiotici consideră că „dovada participării unei enterotoxine este încă redusă; din contra, endotoxina poate fi incriminată în răspunsul inflamator ca agent nespecific în stadiu precoce, apoi ca participantă la o reacție de hipersensibilizare complex mediată, mai degrabă decît anafilactică". Acordă importanță patogenică aminelor toxice rezultate din decarboxilarea acizilor aminați.

„Literatura care se ocupă de semnificația acestor tulpini ca responsabile de diaree este confuză" ..... „Din nefericire, aceste cercetări n-au fost controlate în mod adecvat și cercetătorii nu au trimis tulpinile lor de *E. coli* și altor laboratoare pentru examinare independentă și confirmare" (*Gangarosa, J. Inf. Dis., 137*, 5, 1978).

[**] Cap. XII.

Epidemiologie. Colibacilii pot deveni foarte periculoși în maternități și spitale de pediatrie în care condițiile „sumare" de igienă „asigură selectarea de tulpini enteropatogene" și condiții de contaminare fecal-orală „în doze foarte mari"; se estimează că doza infectantă este de 10^9-10^{10} bacterii pătrunse cu apă și alimente pînă în jejun. Terapiile intensive cu antibiotice asigură și selectarea de „tulpini periculoase" (enteropatogene și multirezistente la A). Ca frecvență, după stafilococ, colibacilul este a doua bacterie condiționat patogenă care furnizează tulpini „periculoase de spital", mai ales pentru sugar.

Apariția infecțiilor bronhopulmonare la copil este favorizată de îndelungată utilizare a A. cu spectrul penicilinelor de biosinteză care distrug flora normală a acestor mucoase (în care predomină cocii gram-pozitiv și -negativ, bacili gram-pozitiv, sensibili), fiind favorizată înmulțirea excesivă a colibacilului ajuns eventual la acest nivel. În intestin, această selecție este făcută mai ales de A. cu spectru larg.

1. INFECȚIA TRACTUSULUI URINAR (ITU)

> „Micțiunea frecventă este calea cea mai bună pentru a evita ITU, deoarece presiunea din vezica plină reduce aportul de sînge în peretele vezical, făcînd ca bacteriile să se atașeze mai ușor la țesutul astfel afectat" (*Med. World News*, Mar. 2, 1973).

E. coli determină $\geqslant 90\%$ din toate ITU (uretrocistite, cistite, nefrite și pielonefrite), însoțite în procente mari de bacteriemie. ITU poate fi dată de orice serotip, dar ele sînt date mai ales de serotipurile cele mai frecvent prezente în colon, care pot deci, contamina și coloniza mucoasa meatului uretral: (O_1, O_2, O_4, O_6, O_7, O_8, O_9, O_{11}, O_{18}, O_{22}, O_{25}, O_{45}, O_{62}, O_{75}, O_{81}). Contaminarea este descendentă (hematogenă) sau ascendentă (cel mai frecvent).

Contaminarea ascendentă; exceptînd uretra anterioară, în ciuda vecinătății cu colonul, integritatea anatomică și micțiunea în ritm fiziologic asigură sterilitatea tractusului urinar normal. Existența de leziuni obstructive (*congenitale* — malformații, *căpătate* — stricturi postgonococice, *tumori* etc.), ca și stînjenirea micțiunii și a evacuării complete a urinii din vezică (prin stază urinară de *decubitus*, sarcină, neglijență etc.) și răceala, favorizează apariția infecției:

— *accesul* colibacililor prin uretră în vezica urinară;

— *înmulțirea* în urina vezicală, prima etapă, adesea asimptomatică, numită *bacteriurie asimptomatică*; (traiectul mai scurt al uretrei, neglijențe privind igiena intimă, staza favorizată de gravidie și neglijență, fac ca bacteriuria să fie mai frecventă la gravide și fetițe; ITU la gravide devenea atît de frecventă, încît a existat cîndva noțiunea incorectă de „bacteriurie fiziologică").

Infecția începe cu:

— invazia mucoasei destinsă prin stază (vezi *motto*) și, eventual,

— progresia ascendentă spre rinichi (cap. XII, B, 1). Odată ajunsă la acest nivel, experiențe pe iepure, ar demonstra o mai mare susceptibilitate la infecția cu *E. coli* a medularei, comparativ cu cortexul renal; s-ar explica printr-o mai lentă mobilizare a fagocitelor, fapt suficient pentru stabilizarea infecției cu predilecție la acest nivel.

Mecanisme de contaminare directă a vezicii și rinichiului sînt cateterismele uretrale și ureterale, citoscopii, sonde *à demeure* (în acest ultim caz, bacteriuria atinge în unele secții 100% din bolnavi și reprezintă o problemă foarte dificilă pentru serviciile de urologie*).

Diagnosticul de ITU este bacteriologic și se bazează pe urocultură cantitativă care permite diferențierea urinei contaminată cu bacterii de pe mucoasa uretrală ($\leqslant$10.000 b/ml urină), de urina în care sînt prezente bacterii de înmulțire în urină ($\geqslant$ 100.000 b/ml urină); această valoare este criteriu de infecție (ITU) numai în prezența semnelor clinice. Persistența uroculturilor pozitive (repetat) la bolnavi cu teste biologice de implicare renală, după terapie adecvată constituie criteriu de confirmare a existenței infecției la nivel renal.

În terapia ITU pe prim loc stă înlăturarea cauzei favorizante: „Pentru a preveni infecția recurentă a tractusului urinar, trebuie prevenit accesul patogenilor din vagin și uretră spre vezica urinară" (*Mod. Med., June* 25: 37, 1973).

În stadiul de uretrocistită se obține ușor sterilizarea bacteriologică cu A și Ch adecvate (antibiogramă, cap. VIII și IX); apariția supurației la nivel renal este mai greu de tratat, putînd duce la hipertensiune și insuficiență renală, moarte la vîrstă tînără. Infecțiile recurente renale se pot complica prin fenomene locale la „endoxtoxină" (cap. XX).

2. ENTERITA GRAVĂ A SUGARULUI **

Contaminarea cu doze foarte mari de *tulpină enteropatogenă* „pare să fie factorul important în apariția diareei cu *E. coli*"; această posibilitate este echivalentă cu mari lipsuri privind igiena în colectivități și spitale de sugari și copii.

Sindromul enteric acut poate evolua ca:

— *enterită dizenteriformă*, prin invadarea colonului (după unii cercetători datorat tulpinilor producătoare a toxinei termostabilă, ST) și

— *enterită holeriformă*, numit și sindrom toxicoseptic, prin invadarea mucoasei jejun-ileonului (după unii cercetători dat de tulpini producătoare de toxină termolabilă, LT), evoluează mai ales la sugar, organism foarte vulnerabil.

Este o boală ințiată de pătrunderea, autoselectarea și înmulțirea tulpinilor enteropatogene în intestinul subțire (jejun și/sau ileon), urmată de invadarea mucoasei; sugarul, sănătos chiar, fiind prin definiție un organism vulnerabil:

— lipsit de imunitate locală anticolibacilară specifică de serotip, prin Ig A secretor (OMS 1972); SCIC este imatur; IgG, transplacentare, sînt puțin sau deloc eficiente față de bacili gram-negativ;

---

* Aceleași mecanisme favorizează ITU, mai rare, cu orice altă bacterie condiționat patogenă prezentă în colon; *S. aureus*, *Proteus*, enterococ etc.

** Enterite acute cu *E. coli* pot apărea și la adultul neimunizat; este descrisă „enterita călătorilor" din SUA.

— *decubitus*-ul constant al sugarului în scutece favorizează pătrunderea şi persistenţa florei fecale în *ileonul terminal* pentru care tulpinile piliate ar avea un tropism specific.

Aceste enterite sînt grave la sugar, cauză majoră de mortalitate la această vîrstă; uneori *localizări secundare mai ales meningeale*, ,,meningita neonatorum'', alteori moarte rapidă cu stare de şoc (asemănător celui prin ,,endotoxină'' injectată i. v. la animal)*.

Diagnostic. Diagnosticul etiologic este numai bacteriologic deoarece sindroame similare dizenteriforme pot da şi alte enterobacterii (tabel 54) şi vibrionul holeric.

În *cazuri sporadice*, identificarea serotipurilor considerate enteropatogene, clasice, este încă singurul criteriu de implicare etiologică**, dar cu totul insuficient deoarece: (i) serotipuri enteropatogene pot fi prezente şi la sănătos ca şi la bolnavi cu enterite de altă etiologie, (ii) sindroame similare pot da numeroase alte serotipuri pentru care de obicei nu există seruri; (dealtfel, *Goldsmith* şi *Du Pont*, 1976, constată ,,lipsa de corelaţie între serotipurile clasice *E. coli* enteropatogene şi testele de virulenţă pe modele animale''). De aceea, testele elaborate pentru punerea în evidenţă a enteropatogenităţii sînt mai laborioase dar mai fidele. Pînă în prezent ,,nu există nici un test general acceptat''.

În *situaţii epidemice* (care au loc mai ales în spitale, creşe), izolarea aceluiaşi serotip (enteropatogen clasic, sau nu), de la toţi bolnavii este criteriul suficient de diagnostic***; în lipsa setului complet de seruri imune pentru tipare, de un real folos este definirea *biotipului* (pe set mare de zaharuri) şi, concomitent, a *antibiotipului* (pe set mare de A şi Ch).

Deoarece unele enterite febrile sînt însoţite de bacteriemii, *hemoculturile* reprezintă metoda ideală de elucidare a diagnosticului etiologic, atît în infecţii sporadice cît şi epidemice; cînd sînt pozitive, alte criterii de diagnostic nu mai sînt necesare.

3. ALTE INFECŢII EXTRAINTESTINALE

Colibacilii dau, mai rar, peritonite, infecţii ale veziculei biliare, ale plăgilor şi arsurilor, bronhopneumonii, meningite *neonatorum*. Diagnosticul, după caz, se bazează pe:

— hemoculturi (mai ales repetate);

— prezenţa unui bacil gram-negativ în frotiul de l. c. r. şi obţinerea culturii pure de colibacil, confirmă diagnosticul de meningită;

— demonstrarea predominanţei în spută spălată, însămînţată în prima oră după recoltare, prin metoda semicantitativă; la sugar, sînt valabile numai recoltări din *cavum* sau recoltare transtraheală (făcute de specialist).

---

* ,,*Oedema-disease* şi gastroenterita la purceii tineri asociată cu infecţie cu *E. coli* nu este toxemie, ci o reacţie declanşată de absorbţia rapidă a unei mari cantităţi de Ag polizaharidic produs prin creştere rapidă a *E. coli* în intestinul animalelor anterior sensibilizate'' (*Gell* şi *Coombs*, 1968, Introd.).

** În prezent este îndoielnic faptul că izolarea de astfel de serotipuri din cazuri de diaree sporadică are vreo semnificaţie clinică (*Gangarosa*, 1978).

*** Pentru serotipurile enteropatogene clasice, I. C. furnizează seruri imune de diagnostic.

BIBLIOGRAFIE

1. ACAR J. F., BOUARICHAUD D. H.: Plasmides 1977. *Concours méd.*, 26/3, 1–14, 1977.
2. BRADLEY R. S., JOHNSON J., PIERCE F. N., KEREN D. F., YARDLEY J. H.: Challenge of dogs with live enterotoxigenic *E. coli* and effects of repeated challenges on fluid secretion in jejunal thiryvella loops. *J. Infect. Dis.*, *134*, 1, 15–24, 1976.
3. BUIUC D.: Diagnosticul etiologic al diareei prin *E. coli*: probleme actuale pentru laboratorul clinic. *Rev. Med. Chir.*, Iași, nr. 4, 1977.
4. DAVID A., SACK R. B. et all.: Diarrhoea associated with heat-stable enterotoxin-producing stains of *E. coli*. *Lancet*, 7 928, p. 239, 1975.
5. DONTA S. T., SACK D. A., WALLACE R. B., DUPONT H. L., SACK R. B.: Tissue culture assay of antibodies to heat-labile *E. coli* enterotoxins. *N. Engl. J. Med.*, 291, p. 117, 1974.
6. GERHARDT N. B., IGLEWSKI W. J.: Alterations in the fecal flora of an individual frequently lacking coliforms. *J. Infect. Dis.*, *134*, 5, 490–494, 1976.
7. GOLDSCHMIDT M. C., DU PONT H. L.: Enteropatogenic *E. coli* lack of correlation of serotype with patogenicity. *J. Infect. Dis.*, *133*, 2, p. 153, 1976.
8. GROSS R. J., SCOTLAND S. M., ROWE B.: Enterotoxin testing of *E. coli* causing epidemic infantile enteritis in the U. K. *Lancet*, *1*, 7 960, p. 629, 1976.
9. HARTLEY L. C., HOWE K. et all.: Distribution of R plasmids among the O-antigen types of *E. coli* isolated from human and animal sources. *Antimicrob. Ag. Chemother.* *8*, 2, p. 122, 1975.
10. KENWORTHY R.: Digestibility and balance studies of gnotobiotic pigs undergoing acute intestinal infection with *E. coli*. (*Rev. Vet. Sci.*, 16/2, p. 208, 1974), rezum. in *Excerpta Medica*, 28/3, p. 207, 1975.
11. KLINE B. C.: Pili, plasmids and microbial virulence. *Mayo Clinic Proceed.*, *51*, 3–5, 1976.
12. LE MINOR L.: Rôle de certains plasmides dans le determinisme du pouvoir entéropathogène des *E. coli*. *Arch. Franç. Péd.*, 31, 705–716, 1974.
13. McCABE W. R.: Humoral immunity to gram-negative baccillary infections in experimental animals and man. *Infection*, *3*, 63–126, 1975.
14. NETER E.: Enteropathogenicity of *E. coli*. *Am. J. Dis. Child.*, 6, p. 666, 1975.
15. POPOVICI M., GEORGESCU C., DUMITRESCU M., FLORESCU N., RACOVIȚĂ D.: Evaluarea semnificației etio-patogenice a *E. coli* serotipurile $O_1 - O_{25}$. *Bacteriol. Virusol. Parazitol. Epidemiol.*, *XXI*, 2, 85–94, 1976.
16. PRICE A. B., DAVIES D. R.: Pseudomembranous colitis. *J. clin. Path.*, 30, 1–12, 1977.
17. ROBBINS J. B., McCRACKEN G. R. et all.: *E. coli* K_1 capsular polysacharide associated with neonatal meningitis. *N. Engl. J. Med.*, *290*, 22, p. 1 216, 1974.
18. ROSE W. C., BRADLEY S. G.: Enhanced toxicity for mice of combinations of antibiotics with *E. coli* cells or *S. typhosa* endotoxin. *Inf. and Imm.*, *4*, 5, p. 550, 1971.
19. RUCKDESCHEL G., WOLFRAM G.: The behaviour of intestinal flora under the influence of formular diets. *Münch. med. Wschr.*, *118*, 26, p. 857, 1976.
20. RUDOY R. C., NELSON J. D.: Entero-invasive and enterotoxigenic *E. coli*. *Am. J. Dis. Child.*, 6, p. 668, 1975.
21. SACK R. B.: Serotyping of *E. coli*. *Lancet*, *1*, 7 969, p. 1 132, 1976.
22. SARFF L. D., McCRACKEN G. H. Jr. et al.: Epidemiology of *E. coli* K_1 in healthy and diseased newborns. *Lancet*, 7 916, p. 1 099, 1975.

23. SMITH N. W., SACK R. B.: Immunologic cross-reactions of enterotoxins from *E. coli* and *V. cholerae*. *J. Infect. Dis.*, *127*, 2, p. 164, 1973.
24. SMITH H. W.: Enteropathogenic *E. coli*. *Lancet*, *1*, 7 973, p. 1 348, 1976.
25. STAVRIC S., JEFFREY D.: A modified bioassay for heat-stable *E. coli* enterotoxin *Can. J. Microbiol.*, *23*, 3, p. 331, 1977.
26. WHIPP S. C., MOON H. W.: Modification of enterosorption induced by a heat-labile *E. coli* enterotoxin in rabbit intestinal loops. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, *140*, 2, p. 395, 1972.
27. * * * Poussées épidémiques de maladies transmises par les aliments. O. M. S. Relevé épidém. hebd., 1973 (17); 1975 (37); 1976 (32).

B. GENUL SALMONELLA

Cuprinde peste 1 500 serotipuri (s. t.), grupate în 4 subgenuri pe baza caracterelor biochimice (tabel 52, 57); patogenetic diferenţiaţi în:

— *agenţii febrelor tifoide, S. typhi, S. paratyphi A şi B*, bacterii cu habitat exclusiv uman (în vezicula biliară la purtătorul sănătos, şi la bolnav) şi eliminate prin materii fecale*; contaminează ape (putînd supravieţui pînă la 1—2½ luni), vegetale, alimente; epidemiile de febră tifoidă sînt mai ales hidrice (datorate infiltraţiei apei de canal în conducte de apă potabilă, latrine-fîntîni) şi prin alimente (manipulare cu mîini murdare, muşte) şi

— *agenţii toxiinfecţiilor alimentare sau salmoneloze*, numele generic dat celor >1 500 serotipuri *(S. typhimurium, S. enteritidis, S. cholera suis* etc.*)*, patogene pentru diferite mamifere, păsări, peşti, transmise omului prin alimente (carne, lapte şi produse lactate, ouă); ele dau la om enterite — bacteriemii — localizări secundare.

Tabelul 57

Caractere diferenţiale ale subgenurilor *Salmonella*

	I	II	III	IV
Dulcitol	+	+	—	—
Lactose	—	—	+ or ×^{a}	—
β-galactosidase	—	×	+	—
d-tartrate	+	—	—	—
Mucate	+	+	d	—
Malonate	—	+	+	—
Gelatin	—	(+)	(+)	(+)
KCN	—	—	—	+

×^{a} = Tîrziu şi neregulat pozitiv;
(+) = Tîrziu, dat totdeauna pozitiv.
După Bergey's Manual, 1975 8th Ed.

Caractere biochimice (tabel 58)

Tabelul 58

Caractere biochimice diferenţiale ale unor serotipuri *Salmonella*

Specia	Fermentarea zaharurilor						
	glucoză	dulcită	trehaloză	ramnoză	xiloză	arabinoză	Producere de H_2S
S. typhi	+	v	+	—	v	v	+
S. paratyphi A	+ g	+	+	+v	—	+	—*
S. paratyphi B	+ g	+	+	+	+	+	+
S. paratyphi C	+ g	+	+	+	+	+	+
S. typhimurium	+ g	v	v	v	+	+	+
S. enteritidis	+ g	+	+	+	+	+	+
S. cholerae suis	+ g	v	—	+	+	—	—

g = producere de acid cu gaz;
+ = producere de acid;
v = reacţie variabilă
* = rare tulpini produc H_2S.

---

* Pînă la 10^{11} b. tifici virulenţi/g de mat. fecale (*Hornick*, 1970).

Tabelul 59

Formule antigenice a cîtorva serotipuri *Salmonella*

Grupe serologice 0	Serotipuri	Antigene 0	Antigene H	
			faza 1	faza 2
A	*S. paratyphi* A	1, 2, 12	a,	—
B	*S. paratyphi B* (*S. schottmuelleri*)	1, 4, (5), 12	b	1,2
	S. typhimurium	1, 4, (5), 12	i	1, 2, 3
	S. heidelberg	1, 4, (5), 12	r	1, 2, 3
C	*S. paratyphi C* (*S. hirschfeldii*)	6, 7 (Vi)	c	1, 5
	S. cholerae suis	6, 7	(c)	1, 5
	S. oranienburg	6, 7	m, t	—
	S. montevideo	6, 7	g, m, s, (p)	—
	S. newport	6, 8	e, h	1, 2
D	*S. typhi*	9, 12 (Vi)	d	—
	S. enteritidis	1, 9, 12	g, m	—
	S. gallinarum-pullorum	1, 9, 12	—	—
	S. panama	1, 9, 12	i, v	1, 5
E	*S. anatum*	3, 10	e, h	1, 6

Structura antigenică la Salmonella (tabel 59)

(i) *Ag de specificitate.* Au fost descrise *65 Ag* „O" (prezente la un serotip în diferite combinații de 1—2—3, rareori mai multe), care împart genul în 50 serogrupe „O" (notate cu litere mari de la A la Z și cu numere de la 51 la 65).

S. typhi și *S. paratyphi C* posedă și **Ag „Vi"**: mult (V), sau puțin (W), sau variante „Vi"-absent; (Ag „Vi" inhibă fagocitarea bacilului tific de către PN, funcție neutralizată de serul anti-„Vi");

Cu excepția *S. gallinarum* (imobil), fiecare din cele > 1 500 s. t. au și cîte unul sau mai multe **Ag „H"**; unele Ag„H" sînt comune mai multor serotipuri „O" numite de „fază 2" sau nespecifică (notate cu cifre arabe); alte Ag „H", prezente numai la puține serotipuri, numite de „fază 1" sau specifică (sînt notate cu litere mici). Există variante defective de antigen „H" fază 1 sau 2, sau ambele.

(ii) *Factori de patogenitate și infecții.* Salmonelele sînt bacterii virulente (datorită Ag „O" și „Vi"), netoxigene și sensibilizante (datorită „endotoxinei").

1. SALMONELLA TYPHI ȘI FEBRA TIFOIDĂ

S. typhi dă febra tifoidă, o enterită, cu bacteriemie și fenomene de sensibilizare (de tip întîrziat și imediat). Este o boală specifică omului, endemo-epidemică.

Debut insidios, febră, tulburări digestive, stare de prostrație (tifică). Perioada de stare (în boala netratată) este de 2—3 săptămîni, cu leucopenie urmată de limfocitoză, erupție discretă lenticulară; defervescență *in lisis*, convalescență lungă.

Sînt posibile localizări secundare în periost, articulații, pulmon, parotide etc.

Patogenia probabilă. Bacilul tific este *virulent* (prin Ag-,,Vi"), *sensibilizant* (prin ,,endotoxină"), și bacterie facultativ intracelulară (b. f. i.), specializată în fenomene imunologice mediate de celule.

Bacilii ajunși în intestinul subțire se înmulțesc pe mucoasă și datorită rezistenței la fagocitoză pătrund în submucoasă. Sînt captați de macrofagele (M) care în organismul neimunizat nu-i pot distruge (b. f. i.); se înmulțesc în M din plăcile *Peyer* și celelalte sedii limfoide și sînt transportați în ggl. mezenterici.

Determinarea leziunilor intestinale: odată cu captarea în M începe instruirea imunologică antitifică a SCIC; (încă de la sfîrșitul perioadei prodromale în ser pot fi puse în evidență titruri mari de Ig antitifice); în ggl și foliculii limfoizi intestinali, unde sînt prezente mari cantități de bacili, are loc mobilizarea și proliferarea limfomacrofagică (L-M), așa cum a fost descrisă de morfopatologiști.

Datele experimentale au demonstrat că prin ,,factorul de transfer" L-M se produce activarea și specificarea activității macrofagului, materializată prin intensificarea activității lizozomale. Reflexul morfologic al acestei activări în febra tifoidă este apariția macrofagelor mari descrise de *Rindfleish*. Intensa acumulare de celule Lss-M în foliculi formează granulomul inflamator, cu trombozarea capilarelor, fenomene care duc uneori la necroză cu formarea ulcerațiilor caracteristice febrei tifoide; focare de necroză sînt observate și în alte organe limfoide: măduvă osoasă, ficat. Sînt modificările caracteristice reacțiilor de sensibilizare de tip întîrziat (demonstrată în salmoneloză și experimental) și b. f. i.: granuloame inflamatorii în ggl. mezenterici și alte organe limfoide, ulcerația plăcilor *Peyer*.

Determinarea simptomelor generale. Macrofagele mobilizează bacilii tifici în toate organele limfoide (splină, măduvă osoasă, ficat etc.); în prima etapă, parte din M sînt distruse și bacilii eliberați dau *bacteriemii*.

În a doua etapă, M. activate imunologic determină liza bacililor fagocitați, iar $\mathrm{IgM} + C'$ determină bacterioliză extracelulară. Astfel, mari cantități de ,,endotoxină" sînt eliberate în sedii limfoide și în circulație. Ca urmare, în febra tifoidă se regăsesc simptomele majore caracteristice reacțiilor experimentale la ,,endotoxină", *generale* (febră, leucopenie, leziuni de endarterită, manifestări cutanate, chiar șoc) și *locale* (leziuni de necroză intestinală, necroză în corticala renală) (v. cap. XX). Aceste simptome se adaugă celor datorate infecției, bacteriemiei.

Această interpretare ar corespunde: (i) rezistenței mai mari a copilului la febră tifoidă comparativ cu adultul; (ii) faptului că terapia masivă antibacteriană determină uneori efect ,,paradoxal", de șoc, explicat prin bruscă eliberare de ,,endotoxină"; (iii) efectului bun al cloramfenicolului (A. imunodepresiv în același timp); (iv) efectelor bune ale corticoterapiei în formele grave de șoc postantibiotic (*Gell* și *Coombs*, introducere, 1968: ,,similitudinea dintre semnele clinice ale formei acute a tifoidei păsărilor și șocul anafilactic . . . este reacția de sensibilizare la *S. gallinarum*").

Infecția tifică este imunizantă.

Vindecarea nu corespunde în mod obligatoriu cu debarasarea organismului de b. tifici; aprox. 3% din foștii bolnavi tratați rămîn ***purtători cronici de b. tifici în vezicula biliară***, în care aceștia continuă să se înmulțească la adăpost de reacțiile imunologice celulare și de Ig, greu accesibili antibioticelor; cu bila, b. tifici sînt descărcați intermitent în intestin. În condiții deficitare de igienă personală și comunală, ei contaminează apa și alimentele (intervin și muștele).

2. AGENȚII TOXIINFECȚIILOR ALIMENTARE, SALMONELOZE

La adultul sănătos, salmonelozele prin alimente se reduc la gastroenterite tipice: apar la mai multe persoane care au consumat același aliment (de obicei preparate reci), după incubație scurtă (de 12—24 ore), manifestîndu-se prin greață, vărsături, scaune diareice, colici care se rezolvă cel mai adesea fără terapie antibacteriană, dar cu regim și reconstituire a florei normale a colonului.

La sugar, evoluția enteritei poate fi ușoară, dar și foarte gravă (cu ulcerații ale mucoasei și hemoragii, febră); uneori cu generalizare pe cale limfatică cu prinderea ggl. mezenterici; uneori localizări secundare purulente (meningite, osteite, pleuropulmonii etc.).

La organisme vulnerabile de toate vîrstele și, mai ales, bolnavi cu IMC deficitară, salmonelozele pot evolua foarte grav, invadează.

Salmonelozele prin alimente afectează, pe tot globul, milioane de persoane anual.

Omul, ca și animalul vindecat, poate deveni purtător cronic asimptomatic.

Imunitatea nou-născutului față de *Salmonella* este practic nulă; salmonelele sînt b. f. i. față de care sînt active IMC și IgM, ambele netransferabile transplacentar.

Orice infecție cu *Salmonella* (ca și febra tifoidă) determină imunitate specifică de sero-tip. (Datele experimentale au arătat că într-un organism imunizat antitific, macrofagele nu mai permit înmulțirea intracelulară a b. tifici și că față de bacilii aflați extracelular sînt active Ig +C', mai ales IgM. Ambele mecanisme sînt eficiente antibacterian față de micile contaminări care se repetă, asigurînd imunitatea specifică de serotip.)

Diagnosticul infecțiilor cu *Salmonella* este bacteriologic și urmărește izolarea bacilului infectant din scaun (coprocultură) și/sau sînge (hemocultură); în gastroenteritele nefebrile se practică numai coprocultura. În febre tifoidice se face și SD (v. subcap. 8).

Sensibilitatea la A. și Ch. *Salmonella*, inclusiv *S. typhi*, sînt supuse fenomenului de dobîndire a R prin fR (subcap. 9, ; cap. X);

exemple: din 472 tulpini, 431 erau multirezistente: 92% R la A; 79% R la N/K, unele R la Su, S, T, C, AN. În epidemia de febră tifoidă din Irak 1974, 7% erau R la furazolidon, 2% la trimetoprim, 1% la gentamicină (OMS, 1974); în epidemia din Irak, 1976, toate tulpinile erau S la gentamicină, cotrimoxozol, rifamicine. Epidemia de febră tifoidă din 1972 în Mexico City a fost dată de o tulpină rezistentă la cloramfenicol.

De elecție în terapia f. tifoide sînt cloramfenicolul, thiamfenicolul, trimetoprimsulfametoxazol, ampicilina.

---

* Alți agenți ai toxiinfecțiilor alimentare fiind *S. aureus* enterotoxigen; *Bacillus cereus*, *L. perfringens*, *V. parahemoliticus*.

Profilaxie (subcap. 10). În prevenirea febrelor tifoide se practică și vaccinarea cu TAB (se recomandă revaccinări anuale în zonele endemice).

Măsuri speciale de profilaxie nespecifică sînt acelea care se adresează *sursei* (vezicula biliară și brațul stîng al canalului în T la purtători sănătoși de bacili tifici) : la astfel de purtători, *cu litiaze biliare*, se recomandă îndepărtarea colecistului (colecistectomia simplă reduce 85—90% din purtători ; îndepărtarea ei și a brațului stîng al canalului de aducție dă procente mai bune) ; la purtători *fără afecțiuni de colecist*, administrare prelungită de A. conform antibiogramei duce la debarasarea veziculei de bacili tifici în procent mare (ampicilină, 100 mg/kg corp + probenicid, 30 mg/kg corp pe zi, în 4 doze, timp de 4—6 săptămîni ; sau, Pen., 12 mil./zi timp de 84 zile ; sau, C, 1 g la 8 ore + S, 2 g/zi, timp de 3 săptămîni).

În ce privește serotipurile *Salmonella* de origine animală, profilaxia prin igiena alimentației ține seama de faptul că 1—40% din animalele domestice sînt purtătoare asimptomatic de diferite serotipuri (25% vaci, 50% porci, 50% curcani ; OMS, 1974).

BIBLIOGRAFIE

1. BELLER F. K. : Pathophysiologic aspects of circulating endotoxin in septic abortion. *Int. J. Gynaec. Obst.*, *8*, 4, 11, p. 617, 1970.
2. BESSA S. M., DALMASSO A. P., GOODALE R. Jr. : Studies on the mechanism of endotoxin induced increase of alveolocapillary permeability. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* *147*, 701—705, 1974.
3. BOIVIN A., MESROBEANU I., MESROBEANU L. : Technique pour la préparation des polysaccharides microbiens spécifiques. *Soc. Biol.*, București, CXIII, 490—492, 1933.
4. BRYCESON A. D. M. : Clinical pathology of Jarisch-Herzheimer reaction. *J. Infect. Dis* *133*, 6, 696—704, 1976.
5. BURDIN J. C. et all. : Généralités sur les Salmonelloses. *M. P.*, 3 mai 1976.
6. CHASSEUR-LIBOTTE M. L. et all. : *Salmonella wien* en Belgique. *Méd. Malad. Infect.*, *7*, 5, 265—269, 1977.
7. CAZAURAN J. M. et all. : Les salmonelloses digestives de l'enfant. *Bordeaux Méd.*, 21, 1976.
8. CHENID L., PARANT M. : Role of hypersensitivity and tolerance in reactions to endotoxins. Cap. II în *Bacterial endotoxin* (vol. V din *Microbial toxin*, 1971).
9. CVJETANOVIC B. : Vaccins contre les *Entérobactériacées* (vaccins antityphoidiques antiparatyphoidiques, et antidysenteriques) : situation actuelle et perspectives d'avenir. În *Seminaire sur les vaccinations en Afrique*, Kampala, 1971.
10. DAMASO D. et all. : Susceptibility of current clinical isolates of *Ps. aeruginosa* and enteric gram-negative baccili to amikacin and other amino-glycoside antibiotics. *J. Infect. Dis.*, 134 (suppl.), 1976.
11. DAVEY R. B., PITTARD J. : Plasmids mediating resistance to gentamicin and other antibiotics in *Enterobacteriaceae* from four hospitals in Melbourne. *AJEBAK* 55 (Pt 3), 299—307, 1977.

12. DIMACHE GH. şi colab.: Cercetări epidemiologice privind eficienţa vaccinării mixte (oral-intradermică) în profilaxia febrei tifoide. *Ses. Şt. Anuală* I. C. (XIV), Bucureşti 1976.
13. DUCA E., BUIUC D., BERCOVICI C., IOSUB C.: Bacili tifici rezistenţi la cloramfenicol şi multirezistenţi la antibiotice, izolaţi din 1971. *Rev. Microbiologia,* Bucureşti, *2,* 4, 1976.
14. GEWURZ H. et all.: Effects of endotoxin polysaccharides on the complement system Cap. 4 în *Bacterial endotoxin* (vol. V din *Microbial toxin,* 1971).
15. GORDON H. A., PESTI L.: The gnotobiotic animal as a tool in the study of host microbial relationships. *Bact. Rev., 35,* 4, 390—429, 1971.
16. GUIBERT J. et all.: Les formes inhabituelles des salmonelloses. *M. P.,* lbis, 74, 1975.
17. HORNICK R. B. et all.: Typhoid fever. Pathogenesis and immunologic control. *N. Engl. J. Med., 283,* 13, p. 686, 1970.
18. ISSANCHOUPA M. et all.: Le séro-diagnostic de Widal et Félix: un miroir à deux faces. *Bordeaux Med., 9,* 21, 1 681—1 686, 1976.
19. JENSEN S. B., MERGENHAGEN S. E. et all.: Susceptibility of conventional and germ-free mice to lethal effects of endotoxin. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 113,* 3, 710—714, 1963.
20. JORGENSEN J. H., SMITH R. F.: Measurement of bound and free endotoxin by the *Limulus* Assay. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 146,* 1 024—1 031, 1974.
21. KAWAKAMI M., HARA Y., OSAWA N.: Experimental Salmonelloses: Hypersensitivity to cell wall lipopolysaccharide and antiinfectious resistance of mice infected with *Salmonella. Infect. Immun., 4,* 5, p. 519, 1971.
22. KIM Y. B., WATSON D. W.: Biologically active endotoxins from *Salmonella* mutants deficient in O- and R- polysaccharides and heptose. *J. Bacteriol., 94,* 3, 1 320—1 326, 1967.
23. KNOTHE H.: *In vitro* susceptibility of recently isolated gram-negative bacteria to gentamicin, sisomicin, tobramicin and amikacin. *J. Infect. Dis., 134* (suppl.), 1976.
24. LENG B. et all.: Réflexions sur la pathogénie de la fièvre typhoide. *Bordeaux Med., 9,* 21, 1 659—1 664, 1976.
25. LÜDERITZ O., JANN K., WHEAT R.: Somatic and capsular antigens of gram-negative bacteria. În *Comprehensive Biochemistry, 26A,* Florkin A. M. and Stotz E. H. (Eds.), 1968.
26. MAGLINLO E. et all.: Clinical experience in detecting endotoxemia with *Limulus* test in typhoid fever and other *Salmonella* infections. *Infection,* 4, 21—24, 1976.
27. MANDAL B. K., MANI V.: Colonic involvement in salmonellosis. *Lancet, 1,* 7 965, p. 887 1976.
28. MĂRCULESCU T., CONSTANTINESCU N., DRAGOMIR C., DUCA E., LAZĂR M., TOMESCU E.: Meningita primitivă cu *S. enteritidis. Pediatria,* V, 408—411, 1956.
29. NEGUŢ E. A.: Interrelaţii sistem complement-endotoxine. Rolul sistemului complement şi al celorlalte sisteme efectoare în realizarea şocului endotoxic. *Bacteriol. Virusol. Parazitol. Epidemiol., XX,* 1, 1—14, 1975.
30. NEGUŢ M., CĂLIN C., NIŢULESCU A., POTCOAVĂ R.: Valoarea unor teste enzimatice folosite în practica de identificare a enterobacteriilor. *Bacteriol. Virusol. Parazitol. Epidemiol., XXII,* 2, 1977.
31. PETROW S., BASU A. K.: Un nouveau sérotype de *Salmonella* isolé au Canada: *Salmonella chomedey* (8: z_{10}, e, n, z, 15). *Can. J. Microbiol., 22,* 9, 1 403—1 404, 1976.
32. POHL P. et all.: *Salmonella* des viandes: sérotype et résistance. *Med. Malad. Infect. 7,* 8, 300—303, 1977.
33. POPOVICI M.: Salmonelozele problemă mondială. În *Salmonelozele în România,* simp. Bucureşti, 1974.

34. POPOVICI M., SZEGLI L., SOARE L., NEGUŢ M., CĂLIN C., FLORESCU N., MANOLACHE D.: Urmărirea circulaţiei serotipurilor de *Salmonella* cu referire specială la apariţia şi evoluţia serotipurilor nou semnalate. *Ses. Şt. Anuală I.C. (XIV)*, Bucureşti, 1976.

35. SIEGEL D., HUBER G. W., ENLOE F.: Continuous non-therapeutic use of antibacterial drugs in feed and drug resistance of the gram-negative enteric florae of food-producing animals. *Antimicrob. Ag. Chemother.*, *6*, 6, p. 687, 1974.

36. VICK J., MEHLMAN B., HEIFFER H. M.: Early histamine release and death due to endotoxin. *Proc. Roy. Soc. Biol. Med.*, *137*, 3, 902—906, 1971.

37. VILDE J.-L.: Les salmonelloses de l'enfant. *Concours Méd.*, *98*, 42, 20.11. 1976.

38. WESTPHAL O.: Bacterial endotoxins. *Int. Arch. Allergy Appl. Immun.*, 49, 1—43, 1975.

39. * * * La structure et les effects biologiques des produits bacteriens provenant de germes gram-negatifs. *Colloques internationaux Paris*, 1967, Ed. du Centre National de la Recherche Sci., 1969.

40. * * * La prévention de la morbidité et de la mortalité périnatales. Rapp. sur un séminaire. *Cah. de santé publ., OMS*, nr. 42, 1971.

41. * * * Chloramphenicol-resistant strains of *Salmonella typhosa*. *N. Engl. J. Med.*, *286*, 22, p. 1 220, 1972.

42. * * * Typhoid and paratyphoid fever in Europa. *WHO Chronicle*, *26*, 10, 459—461, 1972.

43. * * * Les vaccins buccaux contre les entérobactéries. *OMS, Sér. Rapp. techn.*, nr. 500, 1972.

44. * * * Antibiotic resistance of enteric bacteria. *Chronique OMS*, 2, p. 386, 1974.

45. * * * *Salmonella* surveillance. W. H. O. *Wkly Epidem. Rec.*, 1975 (nr. 3, 5, 8, 10, 11, 13, 25, 27, 29, 33, 36, 37, 50, 52); 1976 (nr. 1/2, 6, 19, 23, 29, 30, 33, 38, 43, 51, 52); 1977 (nr. 3, 6, 7, 12, 15, 26, 27, 28, 33).

C. GENUL SHIGELLA
(Shiga, 1896)

> „Bacilul *Shiga* multirezistent la A. şi Ch. a cauzat peste 12.000 morţi în Guatemala în 1968—69 (WHO Ch., 386, 2, 1974); în Bangladesh în 1972—73, o treime din populaţia unei insule a fost afectată (WHO Ch., *31*, 12, 530, 1977).

Genul *Shigella* (*Shiga*, 1896) cuprinde 4 specii (sau serogrupe): serogrup A sau *Sh. dysenteriae*, serogrup B sau *Sh. flexneri*, serogrup C sau *Sh. boydii* şi serogrup D sau *Sh. sonnei*, agenţii dizenteriei bacilare*, boală adesea epidemică. Bacilii dizenterici sînt prezenţi în intestinul omului bolnav, infectaţi şi purtători sănătoşi (ar fi prezenţi la maimuţe superioare şi la cîine).

Bacili de 1—3/0,5 μm, imobili, necapsulaţi, unele tulpini sînt fimbriate.

Cultivare: nu prezintă caractere particulare acelora descrise pentru familie.

---

* Spre deosebire de dizenterie amoebiană, dată de un protozoar.

Caractere biochimice care diferenţiază genul *Shigella* de alte genuri ale familiei *Enterobacteriaceae* sînt incluse în tabelul 55; nu produc gaz prin fermentare; caractere care diferenţiază cele 4 specii (subgrupe), în tabelul 60. Variaţii de la caractere majore sînt întîlnite uneori: tulpini *Sh. dysenteriae* tip 1 care fermentează lactoza, *Sh. flexneri* care fermentează glucoza şi maltoza cu producere de gaz etc.

Structură antigenică

a) **Antigene de specificitate şi identificare.**

B. dizenterici posedă antigene „O" care împart speciile A, B, C, D în serotipuri şi subserotipuri (tabel 61). (Serotipurile 3—7, numite *Large-Sachs*, ale subgrupei A sînt uneori „O"-inaglutinabile, comportare care dispare prin fierbere, ceea ce ar indica prezenţa unui Ag termolabil de înveliş, poate fimbrial). Puţine sînt reacţiile încrucişate între grupe.

b) **Factori de patogenitate.**

(i) *Patogenitatea şi toxina bacilului Shiga. Sh. dysenteriae* serotip 1, numit şi bacilul lui *Shiga*, este singurul dizenteric care produce o toxină puternică dînd astfel cea mai gravă dizenterie (20—100 scaune/zi, cu mucus şi sînge sau chiar hemoragice, cu mare deshidratare, simptoame nervoase, letalitate ridicată). Mai există discuţii dacă această toxină apare ca urmare a lizei bacililor sau este o reală exotoxină eliberată în timpul metabolismului; proteină termolabilă la 75° C în decurs de o oră, antigenică, determinînd apariţia unei antitoxine active; foarte toxică pentru şoarece, cobai, iepure, la care produce paralizii, diaree şi moarte, o veritabilă *enteroneurotoxină*; poate fi transformată în anatoxină.

Tabelul 60

Diferenţe biochimice majore între serotipurile genului *Shigella* *

Serotipuri *Shigella*	manită — lactoză — dulcită V	*S. dysenteriae* (A)	indol — catalază —	*S. dysenteriae* serotip 1		sucroză —
			indol + catalază +	„ „ „ 2		
			indol V catalază +	„ „ „ 3—10		
	manită + (fără gaz)	lactoză — indol V	*S. flexneri* (B)	dulcită —	*S. flexneri* serotip 1—5	
				dulcită V (cu gaz)	„ 6	
			S. boydii (C)	dulcită —	*S. boydii* serotip 1, 5, 7—9, 11—15	
				dulcită +	„ 2 — 4, 6, 10	
		lactoză (+) indol —	*S. sonnei* (D)	dulcită —		sucroză +

V = variabil; (+) = tîrziu; * toate variaţiile sînt posibile

Tabelul 61

Genul *Shigella*, subgrupe, specii, serotipuri

Subgrupa A. Shigella dysenteriae, are 10 serotipuri, :
Sh. dysenteriae serotip 1 sau bacilul *Shiga*
,, ,, ,, 2 ,, ,, *Smitz*
,, ,, ,, 3—7 sau grupul *Large-Sachs*
(uneori ,,O''-inaglutinabil)
,, ,, ,, 8, 9, 10.

Fiecare din aceste 10 serotipuri posedă antigen O specific de tip, identificarea făcîndu-se cu seruri monospecifice.

Subgrupa B. Shigella flexneri cuprinde 8 serotipuri, 4 din ele diferenţiate în 2—3 subserotipuri: primele 6 serotipuri posedă un Ag major (specific de serotip) şi unul sau mai multe Ag care le diferenţiază în subserotipuri, unele fiind comune; serotipurile x şi y sînt lipsite de Ag specific de serotip. Diferenţierea se face cu seruri adsorbite:

Sh. flexneri serotip 1 (subserotip 1a, 1b)
,, ,, ,, 2 (,, 2a, 2b)
,, ,, ,, 3 (,, 3a, 3b, 3c)
,, ,, ,, 4 (,, 4a, 4b)
,, ,, ,, 5
,, ,, ,, 6
,, ,, ,, X
,, ,, ,, Y

Subgrupa C. Shigella boydii cuprinde 15 serotipuri notate 1—15.

Fiecare serotip posedă antigen specific de serotip; identificarea tipurilor se face cu seruri neadsorbite monospecifice. Sînt asemănătoare biochimic subgrupei B.

Subgrupa D. Shigella sonnei, cuprinde un singur tip antigenic care se caracterizează printr-o frecventă şi rapidă *rough*-izare, variaţia S-R; serotipul cuprinde biotipuri care fermentează şi care nu fermentează xiloza.

Bacilul *Shiga* posedă şi factorii de virulenţă descrişi (mai jos) la celelalte serotipuri, inclusiv ,,endotoxină''.

Bacilul *Shiga* este tot mai rar pus în evidenţă; în ţara noastră nu a fost izolat din 1962; a dat însă o mare epidemie în America Centrală cu tulpină multirezistentă la A. (T, S, Su, C); *v. motto*.

(ii) *Patogenitatea celorlalte 32 serotipuri Shigella* este mai redusă: serotipurile 2—7 grup A, ca şi serotipurile grupelor B, C, D determină dizenterii mai uşoare: de la infecţii inaparente, la cîteva scaune diareice fără alterarea stării generale, mai ales la adult, pînă la 10—20 scaune pe zi cu mucus şi cu sînge, mai ales la sugar şi bătrîni vulnerabili; letalitatea este mică; bacteria dispare din scaun în 1—2 săptămîni pînă la maximum 1—3 luni, fără terapie antibacteriană. Toate aceste serotipuri sînt producătoare de ,,endotoxină'', dar sînt *puţin virulente*, neinvazive şi netoxigene.

Ca *factori de virulenţă* au fost descrişi: la *Sh. flexneri* serotip 2a

—*colicine* (*Sh. sonnei* produce pînă la 16) tipuri), importanţi factori de *autoselectare* în intestin, de *colonizare**;

—*pili* (prezenţi la multe tulpini) capabili de *aderenţă selectivă* la celulele epiteliale ale colonului;

enzima mucolotică (la *Sh. flexneri* 2a), favorizind colonizarea;

—*in infetia experimentală* a fost evidenţiată *pătrunderea şi înmulţirea b. dizenterici în citoplasma celulelor epiteliale* (ca şi in cele conjunctivale), la cobai; ''in aria infectată se extind pe culturi de celule HeLa).

Infecţia mucoasei determină un important răspuns inflamator cu P_N şi M.

---

* Apariţia b. dizenteric în mat. fecale se însoţeşte de o diminuare a numărului de *E. coli*, fenomen la care ar contribui producerea de colicine.

Cotaminarea colonului necesită condiţii favorizante. Experienţe pe maimuţe superioare şi pe voluntari demonstrează că doza infectantă de b. dizenterici este foarte mică, 200 bacili ar infecta 25% voluntari sănătoşi, 100 000 *Sh. flexneri* ar infecta în jur de 75 %, ceea ce s-ar explica prin rezistenţa mare a b. dizenterici la aciditatea gastrică şi la bilă, la 4 ore după ingestie.

Depăşirea barierei gastrice este favorizată de ingestia de cantităţi mari de lichide mai ales alcaline, bicarbonat de Na, alimente bogate în celuloză. Ajunşi în intestin, înmulţirea b. dizenterici este favorizată de factori care modifică ecologia normală ; înfometare (experimente pe cobai), sterilizarea intestinului cu A. şi Ch. cu spectru larg, sau cu peniciline care elimină lactobacilii* (exp. pe iepuri) ; iar experienţe pe cobai *germ-free* arată că o preabilă populare a intestinului cu *E. coli* măreşte rezistenţa la infecţia cu dizenteric.

Infecţia. Astfel de date experimentale au arătat că bacilii dizenterici care depăşesc bariera gastrică se înmulţesc în jejun şi invadează apoi celulele epiteliale ale ileonului terminal şi colonului. Înmulţindu-se intens în stratul superficial al mucoasei şi probabil şi în *lamina propria* (OMS, 1972), are loc o foarte mare mobilizare de PN şi M, cu formare de micro- şi macroabcese ; lipsiţi de factori antifagocitari, b. dizenterici sînt distruşi repede la acest nivel cu eliminare de ,,endotoxină'' în mucoasă. În adevăr, date experimentale arată că *Sh. flexneri* nu este patogen pentru cobai şi iepuri normali, dar că aceştia devin susceptibili de a face boala dacă au fost anterior sensibilizaţi cu *E. coli* O_{13} *(Gell* şi *Coombs,* 1965*)*.

Admiţînd datele cercetării experimentale care demonstrează (a) identitatea reactivităţii la ,,endotoxină'' indiferent care este bacteria producătoare, (b) că orice organism este constant sensibilizat la acest produs, (c) că în infecţia în aceste condiţii au loc *booster* efecte în Ac, se poate admite că în boala dizenterică manifestările clinice *locale* (reacţii hemoragice, infiltrat masiv, edem, necroza mucoasei intestinale) şi *la distanţă* (necroze în corticala renală) se suprapun condiţiilor de producere şi manifestărilor din fenomenul experimental *Schwartzmann* (v. cap. XX). Ca mecanism imunologic, aceste manifestări ar corespunde fenomenului alergic local, necrotic, tip *Arthus.* Rămîne o ipoteză : după raportul experţilor OMS (1972) ,,*este puţin probabil ca endotoxina singură să fie responsabilă*''. Desigur, sînt necesari în primul rînd factori care favorizează accesul bacteriilor pînă la epiteliul cu afinitate specială, şi f. de virulenţă.

Diagnosticul etiologic este bacteriologic. Cea mai bună metodă de recoltare este cu tamponul rectal. Pentru reuşita izolării este important de reţinut că vitalitatea bacililor dizenterici în scaun, după recoltare, este de scurtă durată datorită sensibilităţii la fagii specifici şi la antagonismul exercitat de flora normală ; de aceea, însămînţarea se face cît mai repede, în maximum o oră de la recoltare.

Testul keratoconjunctivitei, *Sereney:* inocularea pe corneea de cobai, este o bună metodă de izolare a speciilor *Shigella* care au o mare afinitate şi se înmulţesc în citoplasma celulelor din epiteliul corneean şi conjunctival.

---

* ,,Orice *Lactobacillus* este capabil să se opună proliferării unei enterobacterii cînd sînt însămînţaţi împreună într-un bulion glucozat'' (*Raiband*, 1975).

Pentru izolare se folosesc medii cu bilă sau săruri biliare *(Istrati, Leifson, SS)*, pe care dizentericii cultivă mai bine decît flora normală ; nici un dizenteric nu fermentează lactoza în primele 24 de ore.

Identificarea. Bacili gram-negativ, imobili, care cresc bine pe medii cu bilă, nu produc H_2S, nu fermentează lactoza în 24 ore, corespund genului *Shigella* ; confirmarea diagnosticului de gen și subgrup se face biochimic ; se definește apoi serotipul prin reacții de aglutinare.

Imunitate, vaccinare. Vaccinurile vii orale au dat bune rezultate experimentale pe animal și voluntari și au demonstrat că imunitatea antidizenterică este specifică de serotip. Vaccinarea este o necesitate avînd în vedere morbiditatea mare prin dizenterie.

Sensibilitatea la A — Ch și variabilitate. B. dizenterici sînt primele bacterii la care a fost pusă în evidență multirezistența *(Kitaneato,* 1956) transmisă prin plasmide (cap. X). Natural, sînt sensibili la toate A cu spectru larg, la polimixine, sulfamide ; în prezent, sînt uneori rezistenți în proporții de 60—80% la Su și S, 10—30% la Po, N/K, C, T ; procente mai mici de rezistență la ampicilină.

În cele mai multe cazuri clinice, antibioterapia nu este necesară ; unii cercetători o recomandă însă pentru scurtarea perioadei de contagiozitate în scop profilactic (eliberare din carantină după 3 coproculturi negative ; vezi motto).

BIBLIOGRAFIE

1. ANDERSON E. S., DATTA N. : Resistance to penicillins and its transfer in *Enterobacteriaceae. Lancet,* 1, 407—409, 1969.
2. BOISSIERE H., CAGNAT R., NGAMY E. : Contribution à l'étude des diarrhées à *Shigella* chez l'enfant. *Méd. Malad. Infect., 4,* 8, 435—444, 1974.
3. DUCA E., BERNESCU E. : Circulația factorului de rezistență la antibiotice, implicații practice privind antibiograma și antibioterapia. *Rev. Med. Chir., 3,* 792—797, 1970.
4. DUFLO B., CHRISTOFOROV B., PÉQUIGNOT H. : Aspects actuels des shigelloses en France. *Concours Méd.,* nr. 6, 1976.
5. FORMAL S. B. et all. : Experimental *Shigella* infections. Studies in germ-free guinea pigs. *J. Bacteriol., 82,* 2, 284—287, 1961.
6. ISTRATI G. : Action néurotrope et entérotrope de la toxine protéique thérmolabile du bacille de *Shiga.* Action entérotrope de l'antigène glucido-lipidique du bacille de *Shiga* „S". *C. R. Soc. Biologie,* 129, 1 010—1 012, 1938.
7. ISTRATI G. : Contribution à l'étude des toxines du bacille de *Shiga. C. R. Soc. Biologie,* 127, 1 336—1 338, 1938.
8. ISTRATI G., MEITERT T., CIUFECU C., BORDEIANU V., ALEXA E., POENARU T., MARTIN L. : Note IV. Lysotype des souches de *Shigella flexneri* 2a isolées de cas sporadiques et de foyers épidémiques de dysentérie. *Arch. Roum. Path. Exp. Microbiol.,* 21, p. 36, 8, 1962.
9. LEBEK v. G. : Medizinische Aspecte der infektiösen Antibiotiko-resistenz gram-negativer Darmbakterien. *Path. Microbiol., 330,* 1 015—1 036, 1967.

10. LEVINE M. M., HORNICK R. B.: Lactulose therapy in *Shigella* carrier state and acute dysentery. *Antimicrob. Ag. Chemother.*, *8*, 5, p. 574, 1975.
11. MOORE E. M. E.: *Shigella sonnei* septicemia in a neonate. *Brit. Med. J.*, *1*, 22, 1974.
12. OYE v. E., GHYSELS G.: Antigenic relationship between *Hafnia* and *Shigella flexneri*. *J. Bact.*, *82*, 2, p. 313, 1961.
13. PIÉCHAUD D., RUBINSTEIN S. S., PESSOA G.: Diversité des types de résistance de *Shigella* observés à Sao Paulo (Brésil). *Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur)*, *125B*, 581–584, 1974.
14. PIÉCHAUD D., SZTURM-RUBINSTEIN S.: La dysentérie bacillaire: aspect clinique, épidémiologique et social. *Méd. Malad. Inf.*, *1*, 5–6, 255–267, 1971.
15. PRINCE A., NEU H. C.: Beta-lactamase activity in *Shigella sonnei*. *Antimicrob. Ag Chemother.*, *9*, 5, p. 776, 1976.
16. RUDOY R. C., NELSON J. D., HALTALIN K. C.: *In vitro* susceptibility of *Shigella* strains to trimethoprim and sulfamethoxazole. *Antimicrob. Ag. Chemother.*, *5*, 5, p. 458, 1974.
17. WEISSMAN J. B., GANGAROSA E. J. et all.: Shigelloses. *J.A.M.A*, 229, 9, p. 1 215 1974.
18. * * * Surveillance des Shigella, O. M. S. *Rélevé épidém. hebd.*, 1975 (14); 1976 (5, 37); 1977 (27, 28, 38).

D. GENUL KLEBSIELLA
(Klebs, 1877)

Genul *Klebsiella* cuprinde 3 specii[*]: cea mai importantă pentru patologie este K. pneumoniae (specia tip a genului, numită și pneumobacilul lui *Friedländer*, care l-a descris ca agent al unor pneumonii mortale în perioada 1882—1884 în care *V. Babeș*, cu care se consulta, diferenția pneumococul)[**]; K. ozaenae și K. rhinoscleromatis, agenții unor rinite cronice.

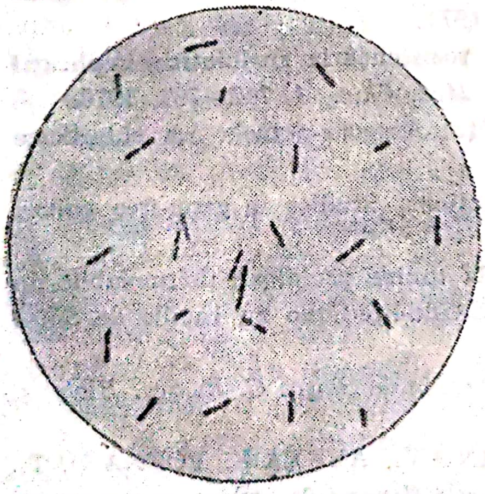


Fig. 106: Klebsiella pneumoniae în produs patologic

Sînt foarte răspîndiți în mediul extern (sol, pe plante, apă) și prezenți la un procent mic (5%) de indivizi sănătoși pe mucoasa TRS, ceva mai frecvent în colon.

Au o morfologie caracteristică: bacili gram-negativ mari (0,6 — 6/0,3 — 1,5 µm), imobili, capsulați; tulpinile din infecții au capsule mari bine vizibile în colorațiile obișnuite în frotiu de produs patologic; se așază singuri, cel mai adeseori în perechi, cap la cap, formînd *diplo-bacili*, uneori scurte lanțuri (fig. 106).

Multe tulpini aparținînd speciilor *K. pneumoniae* și *ozaenae* posedă pili (au fost descrise diferite tipuri morfologice—lungimi, grosimi — și hemaglutinante).

---

[*] Genul *Klebsiella* în actuala clasificare include și bacilii denumiți anterior *Aerobacter aerogenes* (variante necapsulate).

[**] *Haraghy L*: „Activitatea lui *V. Babeș* la Budapesta". Actualități în patologie, 1954.

Cresc foarte bine pe medii simple; tulpinile capsulate (infectante) dau culturi tipice: colonii mari, 3—4 mm Ø, mucoide (M), strălucitoare (în tuburi așezate vertical, curg pe suprafața mediului); bulionul devine vîscos, formează inel la suprafață.

Biochimic se caracterizează printr-o foarte mare variabilitate; se înregistrează variante chiar pentru caracterele majore ale genului (tabel 55) și speciilor (tabel 62): *K. pneumoniae* are 23 biotipuri fermentative 32, (și pe baza testului de producere a ureazei, acizi organici, sau /și indol, lichefierea gelatinei). *K. pneumoniae* și *ozaenae* pot utiliza citratul sau glucoza ca unică sursă de C și amoniacul ca sursă de N. Diferențierea speciilor este biochimică și patogenetică.

Structura antigenică este de asemenea variabilă. Pentru întreg genul au fost descrise 11 serogrupe „O" (polizaharizi de perete, care dau frecvente reacții serologice încrucișate cu polizaharizi „O" *Escherichia*) și 80 serotipuri „K" (polizaharizi capsulari care dau reacții încrucișate cu polizaharizi capsulari de *S. pneumoniae*, *Escherichia*, *S. paratyphi B*). Deoarece polizaharizii capsulari sînt termostabili, antigenele „O", mai profunde, sînt greu de pus în evidență. În practică, se face numai diferențierea serotipurilor „K":

K. pneumoniae se diferențiază în toate cele 80 tipuri capsulare; tipurile K 1, 2, 3 sînt cel mai des întîlnite în pneumonia dată de această specie;

K. ozaenae: cele mai multe tulpini sînt de serotip K 4, mai puține sînt serotipurile K 5, 6, 1/5, rar este întîlnit și serotipul K 3;

K. rhinoscleromatis: toate tulpinele sînt serotip K 3.

Multe tulpini posedă bacteriocine cu specificitate antigenică de specie: *K. pneumoniae*, *K. ozaenae*, *K. rhinoscleromatis*.

Nu sînt cunoscute variații antigenice la proteina piliară.

A fost descris un Ag specific de gen; multe produc antigen-M.

1) *K. pneumoniae* este o bacterie *virulentă* (capsula polizaharidică antifagocitară, prezența pililor de aderență specifică, bacteriocinele factori de autoselectare), *netoxigenă cu* „endotoxină", condiționat patogenă. Afectează organisme cu apărare antiinfecțioasă deficitară; odată ajunsă

Tabelul 62

Diferențierea biochimică a speciilor *Klebsiella*

	Fermentarea glucozei cu gaz	Fermentarea lactozei	VP	MR	Urează	Utilizarea citratului ca unică sursă de C
K. pneumoniae	+	+	+	—	+	+
K. ozaenae	V	(+)	—	+	V	+
K. rhinoscleromatis	—	—	—	+	—	—

VP = *Voges-Proskauer* (test de punere în evidență a acetilmetilcarbinol produs de acidifierea slabă a glucozei).
MR = *roșu metil* (test de punere în evidență a acidifierii puternice prin fermentarea glucozei).
V = variabil; (+) = tîrziu

în țesuturi se înmulțește repede, este piogenă, uneori bacteriemică. Determină complicații supurative bronhopneumonice postvirale (mai ales în viroze tratate cu A și Ch !), în tuberculoză, bronșiectazii. Dă 0,5—5% din toate pneumoniile acute, care diferă de cele prin *S. pneumoniae* prin prognostic mult mai grav : bacteria are mare acțiune necrotică producînd cavități, abcese, care se pot supracontamina (infecții mixte) ; procesul supurativ se extinde uneori dînd pleurezii purulente (sechele fibroase). Este unul din agenții bronșitei cronice. Dă infecții ale mucoasei TRS la sugar, rinite și faringite ; la copil și chiar la adult infectează mucoase sterile de vecinătate dînd otită medie, cu prognostic grav datorită capacității necrozante, mastoidite, sinuzite ; infectează plăgi, arsuri, mai rar dă ITU.

Face uneori ravagii în secții de prematuri-sugari, prin selectare de *tulpini periculoase de spital*, virulente (serotip 1, 2) și multirezistente ; letalitatea ajunge la 90%.

2) *K. ozaenae* determină *ozena*, o secreție nazală purulentă și fetidă cu leziuni granulomatoase, evoluție cronică.

3) *K. rhinoscleromatis* (*Frisch*, 1882) dă *rinoscleroma*, o rinită cronică cu leziuni granulomatoase.

Apariția acestor infecții este strict dependentă de igiena locală a nasului.

Diagnosticul este numai bacteriologic ; pentru produse patologice supracontaminate, criteriul de implicare etiologică este numai cantitativ : prezență dominantă de diplobacili capsulați în frotiu de produs patologic și în culturi (fig. 106).

Identificarea se face biochimic. Deoarece cele mai multe infecții grave sînt date de tipurile 1, 2 care sînt foarte patogene pentru șoarece inoculat s. c. (produse supracontaminate), sau i. p. (produse monobacteriene), inocularea la șoarece se folosește ca (i) metodă rapidă de izolare (șoarecele moare cu septicemie masivă în 24—48 ore), (ii) de identificare și criteriu de implicare etiologică. (Celelalte serotipuri sînt mai puțin patogene pentru șoarece).

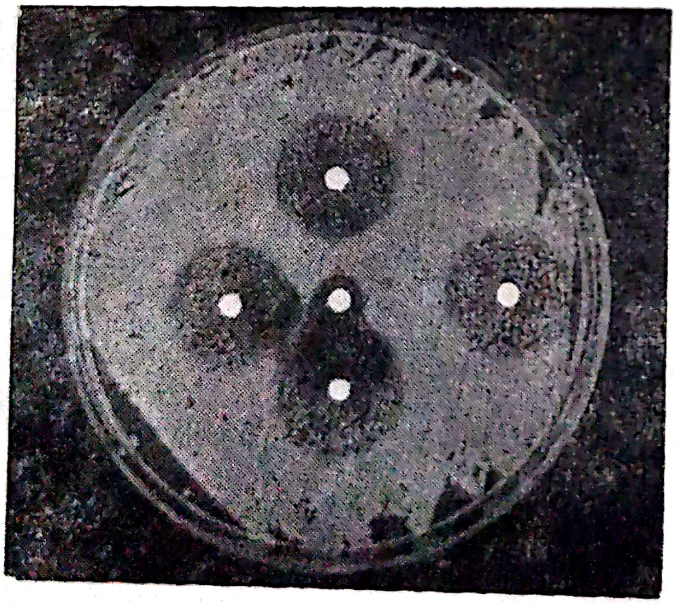


Fig. 107 : Klebsiella pneumoniae izolat din puroi otic ;

antibiogramă pentru determinarea sinergismului *colimicină* (disc central cu 100 μg/ml) — *gentomicină* (cele 4 discuri marginale (cu cîte 10 μg/ml) puse la distanțe diferite (prin bunăvoința *Dr. Elisabeta Bernescu Sdrăcăceanu*).

Gravitatea infecțiilor cu *K. pneumoniae* netratate la timp (letalitate, sechele) impune practicarea antibiogramei pe cultură primară ori de cîte ori este posibil (mai mulți diplococi capsulați pe același cîmp microscopic în frotiu de produs patologic).

Diagnosticul de tulpină periculoasă și de *explozie infecțioasă de spital* se bazează pe punerea în evidență la toți sau aproape toți bolnavii, a aceluiași tip :

cînd serotipul nu poate fi efectuat din lipsă de seruri imune de diagnostic, este suficientă determinarea biotipului (fermentarea dulcitei, inositei, sorbitei) și concomitent a antibioticotipului.

Există și posibilitatea, mai puțin folosită, de determinare a lizotipului.

Sensibilitate la A și Ch: speciile *Klebsiella* sînt natural sensibile la toate A și Ch cu spectru larg, la polimixine, și la concentrații mari de penicilină G, dar tot mai multe tipuri sînt multirezistente datorită transferului de fR-plasmidic (fig. 107).

Datorită procentului foarte mare de tulpini multirezistente, împreună cu *S. aureus*, *Ps. aeruginosa* și speciile *Proteus*, *K. pneumoniae* formează grupul „bacteriilor problemă" a terapeuticii.

BIBLIOGRAFIE

1. CASSONE A., GARACI E.: The capsular network of *K. pneumoniae*. *Can. J. Microbiol.*, *23*, 6, 684—689, 1977.
2. DESPRES P., HEROUIN Cl. et all.: Discussion du rôle de *K. pneumoniae* dans les gastro-entérites infantiles. *Presse Méd.*, *77*, 13, 463—465, 1969.
3. DUCA E., TEODOROVICI GR. și colab.: Aspecte legate de frecvența crescută a pneumobacilului *Friedländer* rezistent la antibiotice; *Rev. Med. Chir.*, Iași, nr. 3, 651—654, 1961.
4. KNITTEL M. D.: Occurence of *K. pneumoniae* in surface waters. *Appl. Microbiol.*, 29, 5, 595—645, 1975.
5. MALOWANY M. S., CHESTER B., ALLERHAND J.: Isolation and microbiologic differentiation of *K. rhinoscleromatis* and *K. ozaenae* in cases of chronic rhinitis. *Am. J. Clin. Path.*, *58*, 5, 550—553, 1972.
6. PIEROG S. et al.: Neonatal septicemia due to *K. pneumoniae* type 60; Epidemic of unusually low virulence. *N. Y. State J. Med.*, *77*, 5, p. 737, 1977.
7. RISER E., NOONE P., BONNIT M. L.: A new serotyping method for *Klebsiella* species: evaluation of the technique. *J. clin. Path.*, *29*, 305—308, 1976.
8. VOICESCU V.: Genul *Klebsiella*. *Microbiol. Parazitol. Epidemiol.*, 3, 209—227, 1971.

E. GENUL PROTEUS

Cuprinde 5 specii: *P. vulgaris* și *P. mirabilis* (frecvenți în depozite de descompunere a proteinelor animale, ape de scurgere, colonul multor specii animale; mai rar prezenți și în colonul omului sănătos); *P. morganii*, *P. rettgeri*, și *P. inconstans* (izolați rareori din intestinul omului).

Bacili de 1—3/0,5 μm, singuri, în perechi sau scurte lanțuri, uneori filamentoși (10—20 μm). Primele două specii sînt foarte mobile și au foarte mulți cili; celelalte au cili mai puțini, mai ales *P. rettgeri*; există multe variante neciliate. Necapsulați. Posedă pili.

Cultivare. Caracterul de invadare pe medii solide este deosebit de caracteristic și constant pentru speciile *P. vulgaris* și *P. mirabilis* (cu număr enorm de cili): însămînțați în centrul plăcii cu geloză, colonia progresează spre periferie acoperind întreaga suprafață în 18—24 ore, ca un văl *(Hauch)* cu valuri concentrice ; tulpinile care nu au cili cresc fără văl *(ohne Hauch)* ; la cele cu cili puţini, *P. morganii*, *P. inconstanis*, invazia poate fi favorizată (în scop de identificare) prin însămînţare pe geloză moale şi incubare la temperaturi sub 37°C ; puţine tulpini *P. rettgeri* sînt invadante. Toţi tulbură bulionul cu formare de peliculă.

Caractere biochimice: nu fermentează lactoza ; au importantă activitate proteolitică, pînă la dezaminare oxidativă a aa (de ex. fenilalanină) şi decarboxilare (acid glutamic) ; sînt mari producători de urează (tabelele 55 şi 63).

Multe tulpini din toate speciile sînt *hemolitice*.

În afară de *P. rettgeri*, toţi sînt producători de *bacteriocine*, (prezente la toate tulpinile) : cele produse de *P. vulgaris* şi *mirabilis* au spectru larg de activitate ; cele produse de *P. morganii* şi *inconstans* au activitate numai în sînul speciei. (Două tulpini diferite de *Proteus* însămînţate pe aceeaşi placă cu geloză, în puncte diferite, dau colonii a căror invazie se opreşte la cîţiva mm distanţă una de alta ; dacă aparţin *aceleiaşi tulpini*, coloniile se unesc ; este testul *Dienes*, cu valoare în identificarea de tulpină în infecţii de spital).

Variabilitatea în sînul genului *Proteus* este foarte mare, mai ales prin *transducţii* (toate tulpinile sînt purtătoare de fagi temperaţi) şi prin transfer de plasmide (fR, f. col, f. piliar ; cap X).

Structura antigenică. La genul *Proteus* au fost identificate aprox. 49 Ag „O" şi 19 Ag „H" care împart fiecare din specii în numeroase serotipuri ; *P. vulgaris* şi *mirabilis*, împreună, numără 100 s. t. (tabel 63).

Serotipurile 1, 2 şi 3 *P. vulgaris* (numite şi OX_2, OX_{19}, OXK) au Ag comune cu specii *Ricketsia* fiind aglutinate de serurile bolnavilor cu rickettsioze, reacţie folosită ca test de diagnostic în aceste boli (cap. XXXVIII).

Patogenitate. Infecţiile cu *Proteus* sînt rare ; majoritatea date de *P. mirabilis*, mai rar de *vulgaris*, *morganii* şi foarte rar de celelalte specii : dau aprox. 3% din ITU şi infecţiile tractusului genital şi de vecinătate (prostatite, peritonite) ; dau un procent din enteritele acute ale sugarului, copilului, uneori pneumonii, abcese, infectează plăgi. Cele mai multe infecţii apar după tratamente cu A care selectează tulpini multirezistente. Pot da bacte-

Tabelul 63

Genul *Proteus* ; caractere diferenţiale ale speciilor

	gaz din glucoză	maltoză (cu gaz)	sucroză	indol	gelatină	H_2S	urează	serotipuri
P. vulgaris	+	+	+	+	+	+	+	110
P. mirabilis	+	—	(+)	—	+	+	+	66
P. morganii	+	—	—	+	—	±	+	
P. rettgeri	+	—	V	+	—	—	+	44
P. inconstans	V	—	V	+	—	—	—	156

riemii cu cele mai variate localizări secundare : abcese cerebrale, pulmonare, artrite etc. Supraînsămînțîndu-se în alimente pot da toxiinfecții alimentare.

Deși rare, infecțiile cu *Proteus* sînt foarte periculoase, mai ales cele pulmonare și în alte organe de importanță vitală, datorită caracterului necrozant. Pot da, uneori, infecții de spital (bacteriurii).

Diagnosticul se bazează pe aceleași criterii de implicare etiologică ca pentru toți condiționat patogenii. În număr mic sînt rareori prezenți în colonul omului sănătos ; prezența în număr foarte mare în fecale însămînțate extemporaneu semnifică condiții ecologice anormale. Cuantificarea în alte produse se face prin însămînțări care permit obținerea de colonii izolate : pe geloză tare (agar 5%) sau geloză cu 0,1% cloral hidrat.

Determinarea identității de tulpină (necesară în infecții de spital) se bazează pe teste biochimice suplimentare (avînd în vedere marea variație din acest punct de vedere), pe testul *Dienes*, stabilirea antibioticotipului ; nu se practică serotipare și nici lizotipare (variațiile sînt prea mari)

Sensibilitatea la antibiotice a speciilor *Proteus* este diferită ; există și variații de la tulpină la tulpină, majoritatea fiind multirezistente ; speciile *Proteus* fac parte din „bacteriile problemă" terapeutică, alături de piocianic, stafilococ. Unele tulpini pot fi sensibile încă la kanamicină, gentamicină, A, T, Po, nitrofurani, acid nalidixic. Majoritatea tulpinilor de *P. mirabilis* sînt sensibile la peniciline și cephalosporine ; există însă tulpini producătoare de penicilinază (antibiograma cantitativă fiind necesară).

BIBLIOGRAFIE

1. FRANKLIN T. J., ROWND R. : R-factor-mediated resistance to tetracycline in *P. mirabilis*. *J. Bacteriol.*, *115*, 1, 235—242, 1973.

2. IZDEBSKA-SZYMONA K. : Comparison of morphological and physico-chemical properties of flagella and flagellins of *P. mirabilis* and its R mutant. *Acta Microbiol. Polonica*, Ser. A, *6*, 23, 2, 163—172, 1974.

3. POPOVICI M., NACESCU N. : Caracteristici serologice și de lizosensibilitate la tulpini de *Proteus* izolate din sindroame clinice variate. *Microbiol. Parazitol. Epidemiol.*, nr. 3, 239—245, 1972.

4. SFAFI M. S., NAOMI DATTA : Infection caused by *P. mirabilis* strains with transferable gentamicin-resistance factors. *Lancet*, *1*, 7 921, p. 1 355, 1975.

5. TERAWAKI Y., ROWND R. : Replication of the R factor *Rts* 1 in *P. mirabilis*. *J. Bacteriol.*, *109*, 2, 492—498, 1972.

6. TERAWAKI Y., ROWND R., NAKAYA R. : Effects of inhibition and restoration of protein synthesis on the replication of the R factor *Rts* 1 in *P. mirabilis*. *J. Bacteriol.* *117*, 2, 687—695, 1974.

Tabelul 64

Caractere diferențiale între speciile *Yersinia* și o comparare cu aceiea ale genurilor *Salmonella* și *Pasteurella multocida* (Reprodus din Bergey's Manual, ed. 8-a, 1974)

	1. *Y. pestis*	2. *Y. pseudo-tuberculosis*	3. *Y. entero-colitica*	*Salmonella*	*Pasteurella*
Motility					
22 C	–	+	+	+	–
37 C	–	–	–	+	–
Urea hydrolyzed	–[a]	+	+	–	–
Esculin	+	+	–	–	–
Rhamnose	(d)	+	–	+	–
Salicin	d	+	–	–	–
Sucrose	–	–	+	–	+
Gas from glucose	–	–	–	+	–
-Galactosidase	+	+	+	d	–
Ornithine decarboxylase	–	–	+	+	–
Citrate utilized	–	–	–	+	–
Indole	–	–	d	–	d

[a] = sometimes positive in paehly isolated shains.

F. GENUL YERSINIA
(Yersin, 1894)

Are trei specii : *Y. pestis*, agentul pestei sau ciumei, *Y. pseudotuberculosis (Y. pstbc)* și *Y. enterocolitica (Y. ent.)*.

Bacili ovoizi, 0,5— 1/1 — 2 μm, în perechi ; în medii lichide au tendință la așezare în lanțuri ; gram-negativ ; cu Giemsa apar colorați bipolar. Necapsulați*. *Y. pestis* este imobilă ; *Y. pstbc* și *Y. ent* au cili peritrichi și sînt mobili la 25°C (nu și la 37°C).

Cultivă pe medii simple. Culturile primare se pozitivează greu la 37°C, în 2—3 pînă la 8—10 zile ; temperatura optimă de creștere este 25—28°C (temp. extreme, —2°C pînă la + 45°C) ; pe medii cu săruri biliare, la 27°C, cresc în 48 ore. Dau colonii S, mici (0,1 — 1 mm ∅), transparente (ca o rouă). În medii lichide, formele S de *Y. pestis* cresc discret fără să tulbure mediul ; tulpinele R formează peliculă și mici flocoane care aderă de pereții tubului și de peliculă, mediul rămînînd limpede.

Biochimic. Caractere de gen : nu fermentează lactoza, fermentează glucoza și alte zaharuri fără gaz ; nu produc H_2S ; nu utilizează citrat ca unică sursă de C. Caractere diferențiale de gen și specie în tabelul 64. Variațiile sînt foarte frecvente.

1. YERSINIA PESTIS

Descoperit în același an (1894) de *Yersin* în *Honk Kong* și de *Kita Sato* în Japonia (fig. 108).

Structura antigenică și factori de patogenitate insuficient caracterizate. Prin gel-difuzie se pun în evidență cel puțin 10 componente serologic diferite. Au fost identificate :

---

* După *Bergey's Manual*, 1975 ; după alți cercetători, la izolarea din organism, *Y. pestis* are capsulă mare care dispare prin *rough*-zarea ce apare frecvent.

— Ag proteic (fracțiunea 1), fie capsular, fie superficial de perete;

— Ag complex V/W (V, proteină; W, lipoproteină);

— toxina proteică, legată de corpul bacteriei; se obține prin liza atît a bacteriei virulente cît și nevirulente;

— „endotoxina".

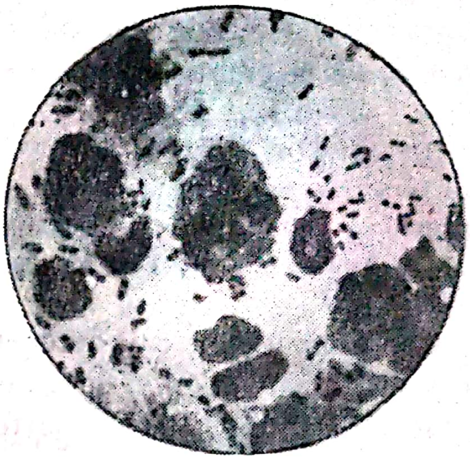


Fig. 108: *Yersinia pestis* (*Pasteurella pestis*); frotiu din puroi de bubon pestos (*J. Dumas*, „Bact. Méd.", 1958).

Primele două Ag (fracțiunile 1 și V/W) sînt Ag de virulență, antifagocitare, care asigură supraviețuirea și înmulțirea în monocite; bacilul pestei dă leziuni caracteristice și altor bacterii facultativ intracelulare și totodată producătoare de „endotoxine" (cap. XX).

Nu se cunoaște bine modul de acțiune al toxinei; (ar acționa asupra sistemului vascular cauzînd hemoconcentrare și șoc).

În determinarea bolii, bacilul pestei se comportă ca o bacterie foarte virulentă, toxigenă și sensibilizantă.

Infecția naturală

Habitat. *Rezervorul natural* de infecție este reprezentat de rozătoare sălbatice (*Rattus rattus*, *R. norvegicus*, *Spermophylus citellus*, veverițe etc.). Bacteria este transmisă de la rozător la rozător de purici (*Xenopsylla cheopis*, *Ceratophyllus fasciatus*); uneori rozătoarele fac infecții septicemice mortale și epizootice; prin același vector bacteria ajunge la șoareci și șobolani de casă, sau direct la om (vînători, pădurari); la om, bacteria poate persista la purtători sănătoși imunizați.

Puricii sug sîngele rozătoarelor bolnave încărcat cu bacilii pestei; aceștia se înmulțesc și persistă luni de zile în intestinul insectei; puricii părăsesc cadavrele și caută alte gazde, înțeapă, sug sîngele și-l regurgitează împreună cu masa de bacterii din preventricul în plaga înțepată.

După *Mollaret*, *Baltazard*, în perioada interepizootică, bacilul pestei ar persista în solul vizuinilor profunde de unde a fost izolat și după 7—11 luni de la epizootie. Bacteria rezistă la temperaturi scăzute (v. cultivare); epidemiile de ciumă sînt și epidemii de iarnă.

Pesta umană îmbracă toate gradele de severitate; de la infecții inaparente imunizante (demonstrate serologic), și *pestis minoris*, pînă la pesta gravă (*moartea neagră*) cu letalitate de 100% în formele pulmonare netratate.

Bacteria ajunge în țesuturi prin înțepătură. Este preluată de monocite și ajunge în ggl. limfatici regionali dînd *bubonul pestos* (inflamație, necroză, fistulizare). Acesta se vindecă în 10—40% din cazuri, sau dă generalizare septicemică cu leziuni inflamatorii, edematoase, necrotice, hemoragice, în practic toate organele limfatice (splină, ficat, piele, mucoase).

După *Poland* (*Hoeprich* „Infectious Diseases"), colapsul circulator, fenomenele trombotice periferice, leziunile „sînt foarte asemănătoare reacţiilor de tip *Schwartzman* asociate cu endotoxinele altor bacterii gram-negativ". Aduce ca argument faptul că toxemia de tip „endotoxinic" este amplificată prin terapia viguroasă antimicrobiană cu efect bacteriologic.

Contaminarea pe cale aerogenă determină *pesta pulmonară* care evoluează ca o dublă pneumonie, enorme cantităţi de bacili fiind prezente în spută şi picături Flűgge; este foarte contagioasă şi a generat mari epidemii şi pandemii.

Diagnosticul bacteriologic se bazează pe izolarea şi identificarea b. pestei în *puroiul* sau serozitatea de puncţie din bubon, în *spută* şi în *sînge*. Aceleaşi metode se folosesc pentru identificarea bacteriei în *cadavrele şobolanilor*. Izolarea se face, fie prin însămînţare pe medii artificiale, fie prin inoculare directă la animalele foarte sensibile (cobai, şobolan, şoarece, spermofil, iepure) care fac infecţii septicemice cu prezenţa bacteriei în toate organele şi în sînge.

Produsele pure bacteriologic (sînge, produs de puncţie ganglionara) se inoculează pe cale parenterală (subcutanat, intraperitoneal) ; produsele supracontaminate (spută, puroi din bubon fistulizat, provenite de la cadavre de şobolani) sînt inoculate *per cutan* sau pe mucoasa nazală.

Riscul infecţiei de laborator este considerabil ; se impun măsuri speciale de manipulare aseptică (halat scafandru, mască, ochelari, mănuşi din cauciuc, boxă sterilizabilă) ; vaccinarea personalului care lucrează în laboratoare specializate.

Serodiagnosticul are valoare retrospectivă şi epidemiologică (45% din contacţii unui caz de pestă prezintă anticorpi). Dinamica ascendentă este evidentă dacă al doilea ser de la bolnav sau contacţi este recoltat la 3—6 săpt. de la debutul infecţiei.

Sensibilitatea la A şi Ch este caracteristică familiei *Enterobacteriaceae*; rezultate bune terapeutice, cu condiţia administrării precoce, a dat în special streptomicina. (Experimental, au fost obţinute tulpini rezistente la A prin transfer de plasmide).

Profilaxia. (a) Deratizarea şi dezinsectizarea sînt metode care rup lanţul epizootic-endemic. (b) Vaccinarea (cu vaccinuri inactivate) în regiunile endemice este larg folosită ; (c) laboratoare specializate supraveghează rezervorul de infecţie printre rozătoare în regiunile endemice şi în porturi ; (d) carantinarea şi tratarea tuturor suspecţilor pînă la debarasare de.

b. pestis.] (e) Antibioticoprofilaxie în caz de suspiciune de contaminare de laborator și la toți contacții bolnavului (foarte bune rezultate).

Stadiul epidemiologic. Ultima mare pandemie de ciumă a început din China în 1889 și a cuprins toată lumea; a omorît 1/4 din populația Europei lăsînd ca o sumbră amintire, în multe orașe, statuile care-i marchează trecerea, ,,*coloana ciumei*''. Ultima mare epidemie de ciumă în țara noastră a avut loc în 1812—1819, descrisă de *Ion Ghica* sub numele de ,,ciuma lui Caragea''.

Cazuri sporadice de ciumă ,,de import'' au mai fost înregistrate în Europa, în 1920 la Paris, 1945—46, Italia, Malta, Corsica. Focare naturale sălbatice sînt încă active în Asia Africa, cele două Americi; în 1967 au fost înregistrate 6 000 cazuri, în 1968, 5 000 de cazuri, majoritatea în Asia. Numărul lor a scăzut la 741 în 1976, la 4 în 1977 (unul din acestea fiind transmis de la pisica de familie). Prezența pestei la rozătoare de cîmp, existența șoarecilor și șobolanilor de casă, traficul mare cu vapoare, rezistența dobîndită a puricilor la insecticide, este o amenințare de care trebuie ținut seama.

2. YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS

(Malassez și Vignal, 1883)

Specie necapsulată, ciliată (mobilă $< 37°C$); frecventă în intestinul rozătoarelor mici și mari, cîine, pisică, păsări de curte; la toate, poate da boli cu leziuni necrotice multiple, mai ales ale ggl. mezenterici, asemănătoare tuberculilor dați de *M. tuberculosis*; boală uneori epizootică cu mortalitate mare. Omul se contaminează pe cale digestivă; bacteria persistă îndelung în intestin; infecția este rară*, cu inflamații ale țesutului limfoid, dînd mai ales **limfadenită mezenterică**, cu evoluție cronică. La noi în țară, limfadenita cu *Y. pseudotuberculosis* a fost pentru prima dată pusă în evidență la Iași de *Elisabata Bernescu-Sărăcăceanu*, în 1964.

Au fost identificate 15 Ag ,,O'' și 5 Ag ,,H'' care împart specia în serogrupe ,,O'' și în cel puțin 10 serotipuri ,,H''. Posedă antigene comune cu multe specii (cu *Y. pestis*, pe baza Ag R profund; cu *Salmonella*, *Escherichia*, *Enterobacter*). Unii fagi litici asupra *Y. pestis* sînt activi și asupra *Y. pseudotuberculosis*, ceea ce denotă existența de receptori de perete identici.

Diagnostic: cultivare similară cu a speciei *Y. ent.*; identificarea se face biochimic (tabel 64) și patogenetic: cobaiul este foarte susceptibil atît la infecția naturală cît și experimentală; șobolanul este rezistent.

Diagnosticul serologic este posibil (nu există încă antigen de diagnostic *Y. pseudotuberculosis*).

---

* Sau foarte puțin căutată.

3. YERSINIA ENTEROCOLITICA
(Hässig, Karrer, Pusterla, 1949)

Bacterie foarte asemănătoare cu *Y. pstbc*, necapsulată, cu cili peritrichi, mobilă sub 37°C; cultivare similară; este ubicvitară în colonul animalelor domestice (cal, bovine, porc, oaie, cîine) şi rozătoare; contaminează frecvent alimentele (lactate, carne) şi persistă îndelung ca saprofit în colonul omului sănătos. Determină infecţii mai ales la rozătoare şi mai frecvent decît *Y. pstbc.* la om.

Pusă în evidenţă în infecţii la om mai ales în ultimul deceniu; la noi, infecţia umană cu *Y. ent.* a fost demonstrată prima dată de *V. Rusu* în 1968; în *Moldova*, prima infecţie a fost semnalată de *Virginia Agafiţei-Beşleagă* în 1975.

Cea mai frecventă manifestare la om este gastroenterita-ileita terminală — enterocolita fără sînge, fetidă (mai puţin acută decît infecţiile similare date de *Salmonella*, *Shigella* şi *Escherichia* tulpini enteropatogene) şi limfadenita mezenterică (sindrom de fosă iliacă dreaptă, apendicita). Poate da, mai rar, septicemii (prima dată la om, *Y. ent.* a fost izolată din sînge) cu exantem şi diaree, formă tifoidică; localizări secundare: artrite, peritonite.

Diagnosticul bacteriologic se bazează pe izolarea bacteriei din materii fecale, cel mai frecvent, conţinut apendicular (recoltat prin secţionarea longitudinală a apendicelui excizat), ggl. mezenterici (excizaţi intraoperator, trituraţi), sînge, lichide din seroase. Izolarea şi implicarea etiologică este confirmată prin autoserodiagnostic*.

Însămînţare extemporanee (sau după conservare limitată la + 4°) pe medii cu săruri biliare (pentru produse supracontaminate). Incubare la 27—28°C. Se recomandă ca toate mediile însămînţate şi incubate pentru *Shigella-Salmonella-Escherichia* să fie incubate, încă 3 zile, la 27—28°C (sau mai multe zile la temp. camerei). Suspiciunea de prezenţă a *Y. ent.* se bazează pe apariţia (in aceste condiţii) de colonii cu aspect *Shigella-Salmonella*, dar care nu aglutinează cu serurile respective.

Identificarea începe cu cercetarea mobilităţii la 25—28°C, biochimic (tabel 64) şi serologic (posedă cel puţin 9 antigene ,,O'' şi Ag ,,H'', neînrudite cu acelea de *Y. pstbc.*, dar care dau reacţii încrucişate cu *B. abortus*). Nu este patogenă pentru animale de laborator.

Serodiagnosticul în dinamică (al doilea ser recoltat la 1—2 săptămîni de la debutul infecţiei) dă rezultate bune (există Ag de diagnostic furnizate de I. C.).

Sensibilitatea la antibiotice este aceea caracteristică familiei; ampicilina a dat bune rezultate în infecţii septicemice.

BIBLIOGRAFIE

1. AGAFIŢEI V., BEŞLEAGĂ E., STRATON A., CUCIUREANU G.: Enterocolita acută cauzată de *Yersinia enterocolitica*. *Rev. Med. Chir.* (Iaşi), 1, 123—125, 1976.
2. ALEKSIK ST.: Diagnosis of infections by *Y. enterocolitica*. *Infection*, 2, 1, p. 40, 1974.

---

[*] Evidenţierea în serul bolnavului de Ig faţă de tulpina izolată de la bolnav.

3. ANDERSEN L., CHRISTIANSEN et all. : *Y. enterocolitica* infection in patients with acute abdominal symptoms. *Danish Med. Bull.*, *84*, 2, p. 80, 1977.
4. BALTAZARD M. : Conservarea pestei în focare vechi. *J. Hyg. Epidem. Microbiol. Imunol.*, *8*, 409–421, 1964.
5. BEJOT J., ALONSO J. M. et all. : Le diagnostic bacteriologique des yersinioses humaines (Infections à *Y. enterocolitica* et *Y. pseudotuberculosis*). *Méd. Malad. Infect.*, 4, p. 231, 1975.
6. BERNESCU E. : Pseudotuberculoză umană confirmată prin izolarea germenului în urină. *Microbiol. Parazitol. Epidemiol.*, *IX*, 4, 337–341, 1964.
7. CERBU AL., POP A., POP AL. : Folosirea antigenelor solubile în diagnosticul imunologic specific şi diferenţial al infecţiilor brucelice precum şi cu *Y. enterocolitica* serotip IX. *Ses. St. Anuală I. C. (XIV)*, 73–74, 1976.
8. CORNELIS G., WAUTERS G., VANDERHAEGHE H. : Présence de β-lactamase chez *Y. enterocolitica*. *Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur)*, *124B*, 139–152, 1973.
9. EISS J. : Selective culturing of *Y. enterocolitica* at a low temperature. *Scand. J. Infect. Dis.*, *7*, 4, p. 249, 1975.
10. ERIKSSON B., OLCEN P. : Septicemia due to a non-compromised host. *Scand. J. Infect. Dis.*, *7*, 1, p. 78, 1975.
11. GUTMAN L. T. : An inter-familial outbreak of *Y. enterocolitica* enteritis. *N. Engl. J. Med.*, *288*, 26, p. 1 372, 1973.
12. HANSAN W., DEMARTEAU-LAURENT C., YOURASSOWSKY E. : Mise en évidence de *Y. enterocolitica* dans un liquide d'ascite. *Méd. Malad. Infect.*, *5*, 4, 231–232, 1975.
13. JOSEFSSON K., LINDBERG A. : Fatal *Y. enterocolitica* septicemia. *Scand. J. Infec. Dis.*, *7*, 1, p. 76, 1975.
14. KNAPP W. : La peste et ses agents. État actuel de nos connaissances *Cah. de Méd.*, *11*, 9, 779–786, 1970.
15. LUCINESCU ST., LUCINESCU A. M. şi colab. : Cercetări asupra infecţiei umane cu *Y. enterocolitica*. *Microbiol. Parazitol. Epidemiol.*, *XV*, 6, 537–543, 1970.
16. LUCINESCU ST. : *Y. enterocolitica* izolată prin coproculturi. *Microbiologia*, 3, p. 249, 1970.
17. Le MINOIR L., CHALON D. M., VERON M. : Recherches sur la présence de l'antigène commun des *Enterobacteriaceae* (antigen Kunin) chez *Yersinia*, *Levinea*, *Aeromonas* et *Vibrio*. *Ann. Inst. Pasteur*, *123*, 6, 761–774, 1972.
18. MOLLARET H. H. et all. : Les septicémies humaines à *Y. enterocolitica*. À ,propos de dix-huit cas récents. *Presse Méd.*, *79*, 8, 345–348, 1971.
19. RUSU V., STĂNESCU C. şi colab. : Limfadenita mezenterică cu *Pasteurella X (Y. enterocolitica)* confirmată bacteriologic (cu consideraţii asupra diagnosticului etiologic). *Viaţa medicală*, *XV*, 23, 1 621–1 630, 1968.
20. RUSU V. : Aspecte clinico-epidemiologice şi probleme de diagnostic în infecţiile umane cu *Y. enterocolitica*. *Broşură editată de I. C. Bucureşti*, 1972.
21. WEBER J. et. all. : Mesenteric lymphadenitis and terminal ileitis due to *Y. pseudotuberculosis*. *N. Engl. J. Med.*, *283*, 172–174, 1970.
22. WINDBLAD S. : Arthritis associated with *Y. enterocolitica* infections. *Scand. J. Infect. Dis.*, *7*, 3, p. 191, 1975.
23. * * * Comité OMS d'experts de la peste. *OMS, Sér. Rapp. techn.*, nr. 447, 1970.
24. * * * La méthode sérologique dans la confirmation de l'infection pesteuse. *Chronique OMS*, 24, 7, 1970.
25. * * * Les infections à *Y. enterocolitica* gagnent le monde entier. *Chronique OMS*, 30, 550–552, 1976.
26. * * * Plague. W. H. O. *Wkly Epidem. Rec.* 1975 (29, 36) ; 1976.

G. ENTEROBACTERIACEAE ACCIDENTAL PATOGENE

Genul Serratia, specia *S. marcescens* cu 46 serotipuri și variante, saprofit larg răspîndit în natură; produce prodigiozina, un pigment roșu nedifuzabil (colonii roșii); se înmulțește ușor și intens cînd ajunge în alimente, produse patologice, pe care le colorează; de obicei nepatogen, rareori descrisă în ITU și alte infecții. Larg spectru de R dobîndită la antibiotice; producătoare de penicilinază.

Genul Enterobacter, saprofit al colonului la om și animale; ajunge în sol, ape, alimente; are 2 specii: *E. aerogenes* și *E. cloacae*; este una din speciile prezente în colon și care, rareori, a fost evidențiată în ITU, colecții purulente.

Genul Citrobacter (utilizează citrat ca unică sursă de C), fermentează lactoza (asemănări cu *Escherichia*). Are 2 specii, una din ele cu 2 biotipuri, include un mozaic de Ag O, H, K sau Vi; în 1969 erau recunoscute 42 serogrupe O și numeroase serotipuri pe baza a $>$ 90 antigene H; neîncapsulat. Saprofit al intestinului la om, poluează ape și alimente; în condiții, rare, în care ajunge să se supraînmulțească în alimente, ar da toxiinfecții sporadice sau explozive; accidental pus în evidență în infecții ale mucoaselor de vecinătate: vezică urinară, veziculă biliară, ureche medie, în meningite.

Multe înrudiri, pe baza antigenelor O, cu serotipuri *Salmonella* (tabel 53): unele tulpini, CiO_5 și CiO_{29}, au Ag Vi identic cu Ag Vi *Salmonella*. Acest aspect ar explica mai bine infecțiile cu *Citrobacter* (tractus urinar, biliar, otite, meningite).

Metodele de diagnostic se suprapun celor folosite pentru *Escherichia, Proteus*.

XXVI. FAMILIA VIBRIONACEAE

> ,,Analizele cost-eficienţă şi cost-beneficiu confirmă că măsurile sanitare elementare dublate de educaţie sanitară, instituite ca acţiuni cu caracter permanent, sînt cele mai bune şi economice pentru controlul holerei" (O. M. S., *Features* nr. 6, 1973).

Familia **Vibrionaceae** cuprinde bacili drepţi sau uşor încurbaţi, mobili datorită unui sau unor cili polari, gram-negativi, facultativ anaerobi, cu metabolism fermentativ şi respirator, oxidază-pozitivi; prezenţi în intestin la om şi peşti, în ape dulci şi sărate. Speciile acestei familii sînt diferenţiate în 5 genuri; din acestea, numai genul *Vibrio*, cu 5 specii*, cuprinde agenţi ai bolii acute diareice, unii de mare interes medical:

V. cholerae, (fig. 109) specie cu habitat natural în intestinul de om, diferenţiată în 4 biotipuri, din care două, *V. cholerae ,,clasic"* şi *V. cholerae eltor* sînt holerigene;

V. parahaemolyticus, specie cu habitat natural la peşte de mare, determină la om gastro-enterite acute grave, mai ales în zone geografice în care se consumă mult peşte de mare;

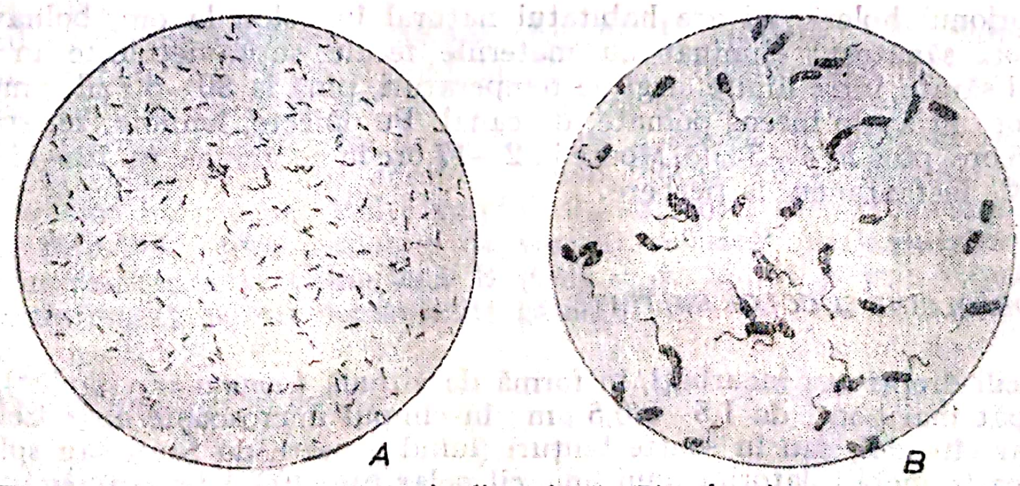


Fig 109: *Vibrio cholerae:* (A) frotiu din cultură; (B) coloraţie specială pentru cili.

---

* *Vibrio foetus* a devenit în actuala clasificare *Campylobacter fetus* inclus în familia *Spirillaceae* (cap. XXVII).

celelalte specii (V. anguillarum, V. fischeri, V. costicola), cu habitat în mediul extern, mai ales ape (de rîu şi marine), izolate din intestin de la peşti sănătoşi şi bolnavi, din peşte conservat prin sărare, din fecale de om şi animale, rareori au fost incriminate în enterite blînde; sînt numite generic ,,holeriformi".

VIBRIO CHOLERAE

Vibrionul holerigen a fost izolat de *R. Koch* din conţinutul intestinal de la bolnavi de holeră în Egipt (1883) şi din apele unor lacuri din India (1886); el explică şi în prezent 5–10% din boala acută diareică din zonele endemice (O. M. S., 1978).

Holera este o boală endemo-epidemică al cărei leagăn este India cu delta Gangelui şi Brahmaputrei, unde există de secole. Între anii 1817–1923, pornind din această zonă, pe glob au evoluat 6 mari pandemii. În ţara noastră, ultima epidemie a avut loc în 1913–1916 şi a interesat, mai ales, efective militare deplasate la sud de Dunăre. După o perioadă de aproximativă linişte, din 1961–1962 a început o a 7-a pandemie: plecînd din Indonezia, a cuprins sudul Asiei, Asia Mică inclusiv Israel, zone din Africa (1970) şi, din acelaşi an, cazuri sporadice au apărut în cîteva state din Europa. În 1971, Asia a avut 102 000 cazuri, Africa 70 000, Europa 121. În 1973 se înregistrau mici izbucniri epidemice în Turcia, Italia; holera a redevenit o ameninţare.

Pînă în 1917–1920, holera a fost dată de o variantă biochimică numită azi vibrionul holeric ,,autentic" sau ,,clasic"; din 1937, toate epidemiile au fost date de o altă variantă biochimică numită *eltor* (izolată prima dată de la pelerini spre Mecca, carantinaţi la El Tor).

HABITAT ŞI VITALITATE

Vibrionul holeric îşi are habitatul natural în colon la om, bolnavi şi purtători sănătoşi; eliminat cu materiile fecale supravieţuieşte în ape dulci şi sărate, între limite largi de temperaturi, pînă la 30–50 zile; moare în 24 ore în apele intens poluate, de canal. Pe obiecte, lenjerie, rezistă de la 4–5 ore, pînă la 4–5 zile. Moare în 2–17 ore la uscăciune, în 10–15 min la 55°C, instantaneu la fierbere.

MORFOLOGIE ŞI COLORABILITATE

Bacili drepţi sau încurbaţi, în formă de virgulă (*comma* = virgulă*), cu un capăt mai bont, de 1,5–3/0,5 µm; în cîmpul microscopic apar izolaţi, mai rar cîte doi, sau în scurte lanţuri (luînd aspecte de S-uri sau spire). Sînt foarte mobili datorită unui unic cil polar (fig. 109); în examen umed între lamă şi lamelă traversează cîmpul microscopic ca ,,bancuri de peşti", ca săgeţi, sau cu mişcări dezordonate, de unde numele *vibrio* (vibraţii); prin treceri pe medii artificiale îşi pierd forma de virgulă, apărînd ca bacili sau cocobacili; sînt necapsulaţi, nesporulaţi, gram-negativ.

---

* *Vibrio cholerae*, numit anterior şi *Vibrio comma*.

CULTIVARE

Cresc repede pe medii simple, apă peptonată, geloză simplă cu 3% ClNa. Esenţială pentru dezvoltare şi totodată caracter diferenţial de alte bacterii, este reacţia alcalină optimă a mediului de izolare (pH 8,6—9,0); creşte mai ales la suprafaţă, în 6—8 ore, înaintea colibacililor, ceea ce reprezintă un important criteriu de izolare din materii fecale. Se dezvoltă între limite largi de temperatură, 5—42°C, cu optimum la 37°.

În medii lichide formează un văl delicat la suprafaţă şi tulbură discret. Pe geloză, la izolarea din organism, dă colonii rotunde, de 1—2 mm Ø, uşor convexe, umede, transparente, uşor emulsionabile, tip S; mai delicate ca aspect decît cele de *Enterobacteriaceae*. Pe geloză-sînge, multe tulpini sînt hemolitice (numai în incubare aerobă).

Vibrionii holerigeni au o rezistenţă relativă la bilă, sulfit şi telurit de potasiu, proprietăţi folosite pentru prepararea mediilor speciale de transport şi de izolare.

CARACTERE BIOCHIMICE

(i) *Caractere biochimice de gen* (comune speciilor din genul *Vibrio*): metabolism respirator şi fermentativ, producere de oxidază şi catalază, fermentează zaharurile fără producere de gaz (glucoză, galactoză, sucroză, manoză); nu acidifică inozita, salicina (caracter variabil pentru *V. fischeri*), arabinoza (caracter variabil pentru *V. parahaemolyticus*). Nu produc urează, lichefiază gelatina, hidrolizează caseina, nu produc H_2S, reduc nitraţii şi nitriţii. Sînt sensibili la 10 µg novobiocină/disc (spre deosebire de alte bacterii gram-negativ) şi la vibriocidul „0/129" (2,4-diamino-6,7-diizopropilpteridin).

(ii) *Caractere biochimice comune speciilor V. cholerae* şi *V. parahaemolyticus*: produc lecitinază şi indol la 22° şi 37°, fermentează manita, hidrolizează amidon, cresc la 5°C, decarboxilează lizina şi ornitina.

(iii) *Caractere biochimice de diferenţiere a speciei V. cholerae în 4 biotipuri,* (tabelul 65); din acestea, numai biotipurile *V. cholerae* „clasic" şi *eltor* sînt holerigene. Multe tulpini ale variantei *eltor* eliberează hemolizină difuzibilă, spre deosebire de varianta clasică; varianta *eltor* diferă şi prin rezistenţa la polimixină B (CMI = 50 µg/ml) şi prin capacitatea hemaglutinantă pentru hematii de găină şi oaie.

STRUCTURA ANTIGENICĂ

(i) *Antigene de specificitate*

Antigenul H este specific de specie (comun la toate tulpinile speciei).

Antigenul O diferenţiază specia în 6 serogrupe (majoritatea biotipurilor *Vibrio* pot fi clasate în cele 6 serogrupe O: 1—6); biotipurile *V. cholerae*

Tabelul 65

Caractere biochimice ale vibrionilor holerigeni şi neholerigeni

Serotip	Caractere comune													Caractere diferenţiale					
	Fermentarea zaharurilor																		
	glucoză	maltoză	manită	lactoză	dextroză	sucroză	amidon	manoză	arabinoză	proteoliză	producere de indol	producere de H_2S	transformare nitraţi-nitriţi	hemoliză gl. roşii de oaie şi capră	hemaglutinare inhibare prin hexamină	sensibilitate la polimixină (50 U/disc)	sensibilitate la fag cholera IV	sensibilitate la fag eltor	VP test
V. cholerae AB, AC, ABC	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+	+	V	−	−	+	−	−
V. eltor „ „	+	+	+	+	+	+	+	+	−	+	+	+	+	V	+	+	−	+	+
V. neholerigeni	variabile									variabile				variabile					

Tabelul 66

Formule antigenice şi identificarea serotipurilor holerigene aparţinînd serogrupului 0 : 1
(*V. cholerae*, biotipurile *cholerae* şi *eltor*)

Serogrup	Serotip	formula antigenică	identificare anti-B	serologică; ser: anti-C
0 : 1	Ogawa	A B	+	−
0 : 1	Inaba	A C	−	+
0 : 1	Hikojima	A B C	+	+
0 : 1	(probabil)	A none	−	−

Fiecare din serotipuri poate corespunde fie biotipului *cholerae* (clasic), fie *eltor*.

„clasic” şi *V. cholerae eltor* aparţin serogrupei O : 1; biotipurile neholerigene, *V. cholerae proteus* şi *V. cholerae albensis* aparţin serogrupelor O : 2—6, ele **nu** aglutinează cu serul anti-O :1 (tabel 65) fiind numite şi NAG, sau NCV *(non cholerae vibrio)*; biotipurile NAG şi mai ales *proteus* pot produce însă fenomene similare unei holere blînde, de gastroenterită („cholera nostra”). Serogrupul este definit cu serurile anti-*V. cholerae* O :1—6.

3 fracţiuni antigenice O, denumite A, B, C (prezente în diferite asociaţii), împart serogrupul O :1 în 3 serotipuri: AB *(Ogawa)*, AC *(Inaba)*, ABC *(Hikojima)*; ar exista şi un serotip A, variantă defectivă numită şi *none* (tabel 66).

(ii) *Factori de patogenitate*

Toxina holerică, fie secretată, fie eliberată consecutiv autolizei bacteriene, este o proteină complexă prezentă în filtrate de culturi în medii lichide, labilă la căldură şi nedializabilă; se leagă ireversibil de celulele mucoasei intestinului subţire, fiind enterotoxică, responsabilă de fuga de apă şi ioni din ţesuturi în lumenul intestinal, numită şi factor de permeabilizare. Parțial purificată, toxina holerică produce (i) diareea holeriformă la iepure nou-născut, (ii) secreție exagerată în ansa intestinală ligaturată la iepure adult, (iii) reacție hiperemică la injectare intradermică și (iv) efect citopatic în culturi celulare. Injectată parenteral, este inofensivă și imunizantă, tratată cu formalină (ca anatoxină) ar fi mai antigenică.

„Endotoxina”, lipopolizaharidul de perete, este prezentă în toate filtratele culturilor de vibrion holeric în medii lichide ca urmare a autolizei. *V. cholerae* a fost prima bacterie cu care a experimentat *Sanarelli*, în 1924*, punînd în evidență fenomenul care-i poartă numele, identificat ulterior ca fenomen imunopatologic (cap. XX și XXV).

Neuraminidaza sau *sialidaza* vibrionului holeric este factor de fluidificare a mucusului; ea depolimerizează acidul N-acetil-neuraminic (polimer al acidului sialic) prezent în mucină ca și în plasma de om și în structurile de suprafață a multor celule de mamifere. (Este folosită ca *receptor destroying enzyme*, RDE, pentru studiul naturii chimice a receptorilor celulari; are aplicații în serologia gripei).

Lecitinaza eliberată de vibrionul holeric este insuficient studiată.

PATOGENEZA

Contaminarea are loc mai ales prin apă și alimente contaminate fecal (prin contact direct cu bolnavul și cu purtătorul sănătos; rolul muștelor în contaminarea alimentelor este esențial).

Depășirea barierei gastrice este favorizată de greșeli de regim alimentar și mai ales de aclorhidrie: 2 g de bicarbonat de sodiu administrate concomitent cu *V. cholerae* la voluntari, scad de 10 000 ori doza infectantă (*C. A. Mims*, 1977).

Ajunși în intestinul subțire, vibrionii se înmulțesc în lumen eliberînd toxină, neuraminidază și lecitinază. Toxina se fixează pe celulele mucoasei intestinale, determinînd modificări de permeabilitate (după o incubație de 5—6 zile). Nu se constată leziuni de tip infecțios-invaziv. Este probabil că fluidificarea mucinei prin sialidază favorizează accesul toxinei la epiteliul intestinal, iar permeabilizarea membranelor celulare prin lecitinază și, posibil și prin sialidază, favorizează pătrunderea toxinei în celule.

Principalul factor prin care vibrionul holeric produce boala este toxina; holera este astfel o toxemie dată de o bacterie care se înmulțește în lumenul intestinului subțire. Fuga de apă și de ioni din țesuturi se manifestă prin diaree profuză (pînă la 100 scaune pe zi, cu aspect de „apă de orez”) și deshidratare rapidă; letalitatea este în medie de 50%.

Gravitatea bolii este condiționată de (i) *apărarea locală antitoxică* (în intestin sănătos enzimele digestive scindează și astfel neutralizează toxina), (ii) de *factori favorizanți* (holera este mai severă la persoane cu alte infecții, parazitoze intestinale, la malnutriți, sugari și bătrîni) și de (iii) *toxigenitatea tulpinii* (biotipul *eltor* cu serotipurile *Inaba* și *Ogawa*, circulante în prezent, sînt mai puțin toxigene decît biotipul „clasic”, morbiditatea este mai redusă, tabloul clinic mai blînd); 90—99% din infecții sînt asimptomatice.

---

* A lucrat cu o tulpină de vibrion holeric obținută în 1923 de la *Mihai Ciucă*, din Iași.

IMUNITATEA

Atît boala cît şi infecţiile inaparente sînt imunizante. Acest fapt este demonstrat prin aceea că frecvenţa holerei în ariile epidemice scade cu vîrsta: numeroase persoane din jurul unui holeric posedă titruri ridicate de anticorpi anti-vibrio. Insuficienta cunoaştere a patogeniei face să fie greu de apreciat exact rolul imunităţii umorale şi al IMC. Este însă demonstrat că imunitatea postinfecţioasă este însoţită atît de apariţia Ig serice, *antitoxice* şi *antibacteriene* (vibriocide), cît şi de IMC. Atît antitoxinele cît şi anticorpii antibacterieni (Ig vibriocide şi limfocite specific sensibilizate) sînt necesari pentru a asigura imunitatea*. Dar aceste mecanisme nu sînt eficiente şi asupra vibrionilor care se înmulţesc în lumenul intestinal (unde nu ajung nici celule şi nici C chiar dacă există Ig). *În consecinţă, boala şi infecţia ocultă, fără tratament antibacterian, nu duc la eliminarea vibrionilor din intestin.* Ca urmare, durata stărilor de purtător sănătos variază de la cîteva luni la 2—3 ani; *V. holeric* s-ar cantona şi în vezicula biliară.

Burgasov şi colab., în 1976, au experimentat în paralel două vaccinuri corpusculare şi un vaccin mixt antitoxic şi anticorpuscular; la 95—98% din vaccinaţi cu vaccin mixt apare şi antitoxină; vaccinurile corpusculare determină numai Ac vibriocizi şi sînt sensibilizante (reactogene). Vaccinuri corpusculare folosite pe scară mare în Bangladesh şi alte zone nu au modificat cursul epidemiei. Experimentări pe animal (*Kaur, Burrows, Furlang*, 1971) sugerează aceleaşi concluzii: *imunitatea antiholerică este în primul rînd antitoxică*; ca urmare, un vaccin antiholeric imunogen trebuie să conţină şi suficientă anatoxină.

DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIC

Recoltarea materiilor fecale de la bolnav se face anterior administrării antibioticului, sau la maximum o oră după; se face prelevare rectală cu sondă de cauciuc (nr. 26, 28) sterilă, sau recoltare cu tamponul de vată din rect, sau din vasul de noapte decontaminat în prealabil prin fierbere**.

Recoltarea pentru controlul stării de purtător se face cu tamponul de vată hidrofilă din scaun spontan, sau purgat (cu 30 g sulfat de Mg), emis în vas decontaminat prin fierbere.

Transportul. Cînd recoltarea se face în teren, la distanţă de laborator, tamponul este descărcat în 10 ml *mediu de transport*, fie apă peptonată alcalină (cu 10% peptonă, 10% ClNa, *p*H 8,6) care foloseşte şi ca mediu de îmbogăţire, fie mediu semisolid Cary-Blair, şi se asigură transport la temperatură ambiantă. În lipsa mediilor de transport, se pot folosi pentru recoltare benzi de hîrtie de filtru, înmuiate în scaunul lichid, introduse atent în săculeţi de plastic care se închid ermetic; în aceste condiţii, vibrionii supravieţuiesc pînă la 5 săptămîni.

Însămînţarea. Scaunul provenit de la bolnav poate fi însămînţat direct pe o geloză, prin epuizare; mai bună este însămînţarea pe un *mediu selectiv*

---

* În adevăr, vibrioliza prin C′ *in vitro* şi fagocitoza în organism imunizat antivibrio au fost demonstrate de *Pfeiffer* şi *Isaeff, Bordet* şi *Mecinicov*, încă din 1895—1896.

** 1 g de materii fecale de bolnav holeric conţine pînă la 10^6—10^9 vibrioni holerici.

(geloză-gelatină cu telurit și taurocoalat, sau geloză cu citrat, săruri biliare și tiosulfat) ; în paralel, poate fi însămînțat și în *mediu de îmbogățire* (apă peptonată alcalină cu *p*H 8,6, sau mediu lichid cu tripticază, taurocoalat de Na și telurit de K).

Scaunul recoltat pentru controlul stării de purtător este însămînțat întîi în mediu de îmbogățire.

Incubare, prelucrare. Mediile de îmbogățire sînt incubate 6—8 ore la 37°C (pentru mediile de transport și îmbogățire se iau în considerație și orele de transport) ; din mediul de îmbogățire se fac treceri pe medii selective. Controlul coloniilor pe medii selective se face după 8—10 ore și 24 ore de incubare.

Identificarea prezumtivă (rapidă) se face serologic : 5—10 colonii transparente sînt probate cu ser antiholeric polivalent („O" : 1, A.B.C.) în test de aglutinare pe lamă, pentru diferențierea de vibrionii NAG. Coloniile pozitive, sau suspecte, sînt repicate pe geloză pentru obținerea culturii pure.

Identificarea definitivă se face (i) biochimic, pe baza caracterelor de gen, de specie și de biotip (tabel 65) și (ii) serologic, cu seruri monospecifice adsorbite, pentru stabilirea serotipului (tabel 66).

SERODIAGNOSTICUL

Diagnosticul serologic este retrospectiv. Anticorpi (Ac) aglutinanți (și vibriocizi) pot fi puși în evidență la titruri ridicate după 5—7 zile de la debutul infecției ; avînd în vedere existența de Ac ziși „naturali" (datorați înrudirilor antigenice ale vibrionilor holerigeni cu vibrioni neholerigeni și cu *Enterobacteriaceae*) și a Ac postvaccinali, se ia în considerație numai dinamica ascendentă a titrului anti-*V. cholerae*. În acest scop, se recomandă recoltarea primului ser la depistarea bolnavului (cu recoltare concomitentă de la contacți) și a serului doi după 7—14 zile. La fost bolnav debarasat de vibrion holeric, titrul Ac scade mult în următoarele 6—12 săptămîni ; la purtători cronici, sănătoși, sînt prezente titruri aglutinante de 1/160, în medie.

PROFILAXIA

(i) *Profilaxia nespecifică* : măsurile generale de prevenire a infecțiilor intestinale rămîn cele mai eficiente și în holeră (v. moto și pp. 41, 416—417). tabelul 136).

(ii) *Antibioticoprofilaxia.* Deoarece imunitatea postinfecțioasă și postvaccinală nu duc la debarasarea intestinului de v. holeric, singura posibilitate de întrerupere a intercontaminării și a contaminării mediului extern este prin administrare de A. și Ch. cu spectru larg, atît la bolnav, cît și la purtătorul sănătos.

(iii) *Vaccinul antiholeric* este o necesitate în zonele endemice, dar vaccinurile actuale sînt mediocre. Se folosesc vaccinuri corpusculare injectabile, care asigură anticorpi antibacterieni (însă IgM, cele mai vibriocide, nu ajung în lumenul instestinal, iar vibrionii nu ajung în țesuturi), dar prea puțină antitoxină; sînt în schimb foarte reactogene, datorită prezenței „endotoxinei". Se apreciază o eficiență de protecție de 60% timp de 2—3 luni (WHO Cr. *32*, 10, 1978). Vaccinarea nu influențează starea de purtător intestinal.

Date experimentale actuale sugerează necesitatea (i) folosirii unui vaccin mixt (anatoxină plus suspensie bacteriană) capabil să inducă atît imunitate antitoxică, cît și antibacteriană, (ii) a administrării vaccinului corpuscular pe cale orală, a anatoxinei pe cale generală și (iii) a folosirii ca vaccin corpuscular a unui vaccin viu cu virulență atenuată*.

SENSIBILITATEA NATURALĂ LA A. ŞI CH. ŞI TERAPIE

Vibrionul holeric are sensibilitatea similară și altor bacili gram-negativ (v. cap. IX). Dobîndirea rezistenței prin transfer de *fR* este demonstrată. Un mic procent (2,5% după *O'Grady* și colab. 1976) de tulpini *eltor* din actuala pandemie sînt R la unul sau mai multe antibiotice (T, A, C, S, Su); din 1 156 tulpini testate, de pe tot globul, autorii nu au găsit tulpini rezistente la furazolidon.

Terapia bolii este în primul rînd patogenetică, ca în toate sindroamele diareice acute, prin rehidratarea orală și i. v. a organismului și în al doilea rînd antibacteriană.

BIBLIOGRAFIE

1. AZURIN and ALVERO: Cholera incidence in a population offered cholera vaccination: comparison of cooperative and uncooperative groups. *Bull. WHO*, *44*, 815—819, 1971.
2. BURGASOV P. N., SUMAROKOV A. et all.: Comparative study of reactions and serological response to cholera vaccines in a controlled field trial conducted in the USSR. *Bull. WHO*, 54, 163—169, 1976.
3. CHAICUMPA W., ROWLEY D.: Mechanisms of antibacterial immunity against *V. cholerae* in the intestinal tracts of baby mice. *J. Infect. Dis.*, *128*, 1, p. 56, 1973.
4. DEB B. C., GUPTA S. P. G. et all.: Effect of sulfadoxine on transmission of *V. cholerae* infection among family contacts of cholera patients in Calcutta. *Bull. WHO*, 54, 1976.
5. GREENOUGH P. W. B., CARPENTER C. C. J.: *V. cholerae* enterotoxin and its mode of action. *Bact. Rev.*, *35*, 1, 1—13, 1971.
6. KAUR J., BURROWS W., FURLANG M. A.: Immunity to cholera: antibody response in the lower ileum of the rabbit. *J. Infect. Dis.*, *124*, 4, p. 359, 1971.

---

* La colocviul *Nobel* privind lupta antiholerică au fost discutate: (1) vaccinuri orale vii, din tulpini avirulente (cu propunerea de a fi experimentate pe voluntari) și (2) vaccin mixt, corpuscular omorît asociat cu toxină (subunitatea B a toxinei holerice), ca mult mai eficient decît cele de pînă acum (*Santé du Monde*, O. M. S., 1978, nov., 30—31).

7. MASELY W. H. et all. : Report of the 1966—7 cholera vaccine trial in rural east Pakistan: 4. Five years of observation with a practical assessment of the role of a cholera vaccine in cholera control programmes. *Bull. WHO, 47*, 2, p. 229, 1972.

8. McBEAN A. : Le vaccin contre le choléra pour l'Afrique. In, *Seminaire sur les vaccinations en Afrique*. Kampala 7, 8, 9, 10 Décembre 1971.

9. NACESCU N., CIUFECU C. : Vibrionii N. A. G. (N. C. V.). *Bacteriol. Virusol. Parazitol. Epidemiol., XX*, 3, 15—22, 1975.

10. O'GRADY F., LEWIS M. J., PEARSON N. J. : Global surveillance of antibiotic sensitivity of *V. cholerae. Bull. WHO, 54*, 181—185, 1976.

11. PALMER D. L. et all. : Nutritional status : A determinant of severity of diarrhea in patients with cholera. *J. Infect. Dis., 134*, 1, 8—14, 1976.

12. RUSU V., DOROBAT-BARON O., LAZAROAIE D. : Evaluarea rolului *V. parahaemolyticus* in epidemiologia și etiopatogenia bolii diareice. *Ses. St. Anuală I. C. (XIV)*, București, 1976.

13. SCHRANK G. D. et all. : Differential medium for *V. cholerae. Infect. and Immunity, 7* 5, 827—829, 1973.

14. SOMMER A., KHAN M., MOSLEY W. H. : Efficacy of vaccination of family contacts of cholera cases. *Lancet*, 7 814, 1 230—1 232, 1973.

15. * * *: Meeting the threat of cholera, *WHO Chronicle, 20*, 7, 1966.

16. * * *: L'immunologie du choléra. Rapport d'un groupe scientifique de l'OMS. *Sér. Rapp. techn.*, nr. 414, 1969.

17. * * *: Epidémie de choléra en Afrique. *Presse Méd., 79*, 11, p. 475, 1971.

18. * * *: The seventh cholera pandemic. *WHO Chronicle, 25*, 4, 155—160, 1971.

19. * * *: Cholera in 1971 : a dominant global problem. Press release WHO/24, 1972.

20. * * *: La septième pandémie. Aperçu en 25 points sur le choléra. *Features*, 6, 1973.

21. * * *: Guide pour le diagnostic de laboratoire du choléra. Préparé par le Service des Maladies bactériennes. OMS, 1974.

22. * * *: Cholera. W. H. O. *Wkly Epidem. Rec.*, 1975 (7, 10, 21, 23, 25, 29, 34) ; 1976 (18, 30, 35, 42) ; 1977 (19, 24, 37, 38, 39, 52).

XXVII. FAMILIA SPIRILLACEAE

GENURILE SPIRILLUM ȘI CAMPYLOBACTER

Familia *Spirillaceae* cuprinde bacterii gram-negativ, cu perete rigid, lipsite de flexibilitate (spre deosebire de spirochete, bacterii spiralate flexibile), mobile; genurile *Spirillum*, filamente spiralate cu smoc de cili la ambele capete *(lophotrichi)* și *Campylobacter*, bacili curbi *(campylo* = curb), *monotrichi* sau *amphitrichi*. Majoritatea speciilor sînt saprofite prezente mai ales în ape naturale, unele sînt comensale, puține sînt patogene.

A. GENUL SPIRILLUM

Are o singură specie patogenă, *Spirillum minor*, agentul bolii sodoku sau „febra mușcăturii de șobolan" (*so* = șobolan; *doku* = otravă); este un comensal obișnuit al mucoasei oro-faringiene la rozătoare, contaminează accidental omul prin mușcătură de șobolan.

Dă o boală cu debut brusc, inflamație la locul mușcăturii cu limfadenită și diseminare hematogenă, frison, febră, erupție maculară, leziuni degenerative în tubii renali, durează 3—4 zile, poate da recăderi; netratată, letalitate 10%. Descrisă întîi în Japonia, a fost identificată și în alte părți pe glob, inclusiv Europa.

Diagnosticul se bazează pe (i) evidențierea spirilului la locul leziunii, fie în preparat umed la microscop cu fond negru (spiril de 3—4/0,2—0,5/μm, cu două-trei spire largi și regulate, foarte mobil), fie după colorație Giemsa (fig. 110), și (ii) inocularea sîngelui la șoarece ori cobai, care fac în 5—15 zile spirilemie (cu punerea în evidență a spirilului microscopic în sînge). Nu a fost cultivat.

Spirillum minor are aceeași sensibilitate la A ca și spirochetele; eficiență discutabilă.

Profilaxie: deratizare.

B. GENUL CAMPYLOBACTER

Cuprinde specii saprofite și comensale ale mucoaselor și intestinului la animale și la om, microaerofile pînă la anaerobe, cultivă pe medii fără ser; dau colonii mici de la M-S la R; nu fermentează și nu oxidează zaharuri.

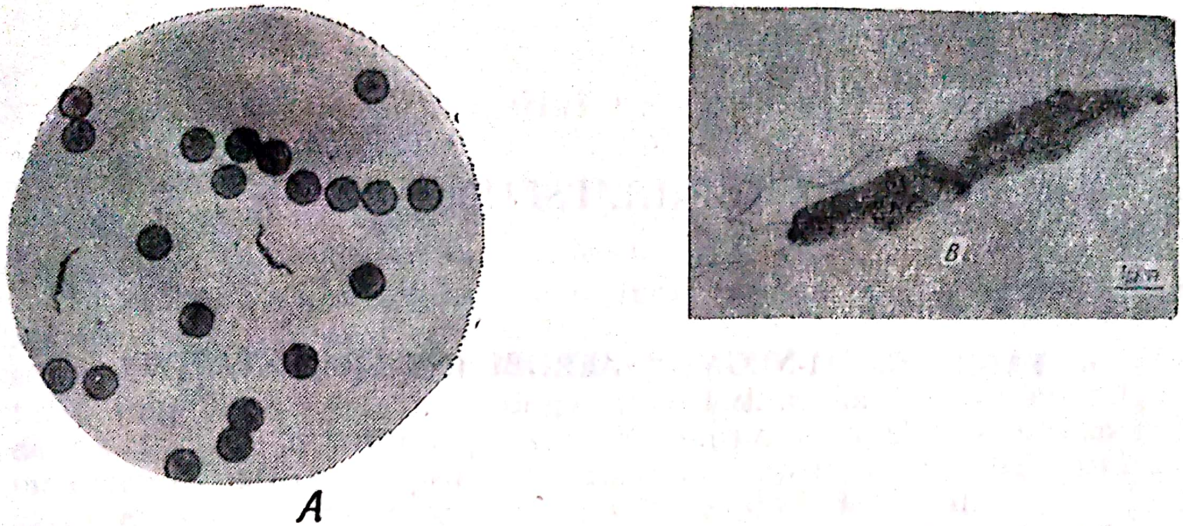


Fig. 110: *A. Spirillum minor*, frotîu din sînge de șoarece infectat experimental, Giemsa; × 1 000. (Reprodus din *Topley and Wilson's Princ. of Bact. and Immunity*, 1955, p. 1052). *B. Campylobacter fetus* subsp. *intestinalis* (electronomicrogr. de Gubina și colab., 1976).

Campylobacter fetus subspecia *intestinalis* (fost *Vibrio foetus*) este un saprofit al intestinului la multe animale și la om; determină avort sporadic la bovine, ovine. Este o bacterie accidental patogenă la om, demonstrată rareori în infecții intestinale la sugar și infecții *postabortum* cu bacteriemii-septicemii; dă uneori localizări secundare grave: meningite, endocardite.

Are sensibilitate la A și Ch caracteristică bacililor gram-negativ.

Alte specii, ca *C. sputorum*, și subspecii, fac parte din flora mixtă a mucoasei bucale.

BIBLIOGRAFIE

1. FLEURETTE J., FLANDROIS J. P., DIDAY M.: Méningites et diarrhées à „Vibrio fetus". *Presse Méd.*, *79*, 11, 480–482, 1974.
2. GUBINA M., ZAJČ-SATLER J., MEHLE J., DRINOVEC B., PIKEIJ F., RADŠEL-MEDVESCEK A., SUHAČ M.: Septicemia and Meningitis with *Campylobacter fetus* subspecies *intestinalis*. *Infection*, *4*, 2, 1976.

XXVIII. GENUL PSEUDOMONAS

BACILI GRAM-NEGATIV AEROBI (NEFERMENTATIVI)

Familia **Pseudomonadaceae** are 4 genuri. Din acestea, numai genul *Pseudomonas* cuprinde specii de interes medical; este foarte heterogen metabolic și antigenic, datorită numeroaselor posibilități de variație a speciilor gram-negativ saprofite ale mediului extern ape și sol (unde îndeplinesc funcții de mineralizare a materiei organice vegetale și animale), de unde ajung frecvent în colon la om și la animale (v. cap. X).

Au fost descrise peste 230 de specii *Pseudomonas*, diferențiate în 4 grupe metabolice, din care, în *Bergey's Manual* ed. 8, sînt validate doar 29; menționăm pe cele mai importante pentru patologia umană:

Ps. mallei, specie parazită și înalt patogenă pentru animale, agentul morvei, zoonoză transmisibilă omului, practic eradicată;

Ps. pseudomallei, agentul melloidozei, o zoonoză transmisibilă omului, mai frecventă în zonele calde de pe glob, și

Ps. aeruginosa, specia cea mai importantă a genului pentru patologia actuală, principală bacterie condiționat patogenă, dă pînă la 5—15% din toate infecțiile de spital *(Bailey)*.

Ca accidental patogene, au fost descrise speciile *Ps. fluorescens*, *Ps. stutzeri*, *Ps. cepacia*, *Ps. acidovorans*, *Ps. maltophilia*, *Ps. diminuta*.

Multe alte specii ale genului sînt fitopatogene sau nepatogene.

Sînt bacili gram-negativ, drepți sau ușor curbi, de 1,5—4/0,5—1 µm, majoritatea mobili, cu cil, sau cili polari. Strict aerobi, produc catalază, nu fermentează dar folosesc zaharurile prin oxidare. Unele specii produc oxidază; unele pot utiliza H_2 sau CO_2 ca unică sursă de energie, citrat ca unică sursă de C (facultativ chemolithotrofe; v. cap. III). Unele specii produc pigmenți difuzibili, fluorescenți în UV (galben-verde); unele produc și/sau pigmenți fenazinici insolubili în apă rece (albastru-verde, galben-oranj, roșu închis); unele specii sînt acromogene. Cresc pe medii simple, la 30—37°C, pH 7—8,5.

1. PSEUDOMONAS AERUGINOSA

Numit și bacilul puroiului albastru sau piocianic *(pyo-cyanea)*.

Fordos a separat piocianina (*pyo* = puroi, *kyanos* = albastru închis), în 1869. *Schroeter* a descris bacteria în 1872 numind-o *aerogenes* (de la *aes*, *aeris* = cupru) deoarece înverzește mediul, ca rugina de cupru. *Gessard* a cultivat-o în 1882.

HABITAT

Agent de putrefacție a materiei organice animale și vegetale; prezent în ape naturale, stătătoare mai ales, pe vegetale, în ape de scurgere, de unde ajunge pe piele, pe mucoase și în colon, la om și animale. La om, este pus în evidență în intestin, pe tegumentele perianale, axilă, la aproximativ 15% din persoanele sănătoase.

În încăperi, supraviețuiește și se înmulțește în oricît de mici cantități de materie organică și umezeală: pe obiectele din camera de baie (prosoape, bureți, perii), pe pardoseala din jurul WC-urilor. În spital, se selectează tulpini rezistente la antiseptice și dezinfectante, care devin agenți de contaminare a acestor produse, a colirurilor și altor soluții medicamentoase, *cu utilizare repetată din același recipient*; este astfel principalul agent exogen de infectare, mai ales în condiții de spital.

MORFOLOGIE ȘI COLORABILITATE

Bacil gram-negativ, subțire (0,4—0,5 μm), de lungimi variabile (1,5—5 μm, pînă la forme filamentoase); izolați, în perechi, uneori scurte lanțuri; foarte mobili, cu 1—3 cili polari (există variante neciliate); adesea sînt necapsulați, dar au fost descrise tulpini capsulate, cu capsulă polizaharidică, izolate din infecții grave.

CULTIVARE

Cultivă bine pe medii simple, bulion și geloză cu pH 7, 6, în incubare strict aerobă, la 37°C. La izolarea din organism, formează colonii S (mari, rotunde, ușor convexe, strălucitoare, de consistență untoasă, ușor emulsionabile); tulpinile capsulate dau colonii M (mucoide). În bulion, cultivă abundent tulburîndu-l și formînd peliculă la suprafață.

PIGMENTOGENEZA

În 24 ore, la 37°C, colorează mediile în albastru datorită *piocianinei* (pigment fenazinic albastru) și în galben-verde fluorescent datorită *fluoresceinei*; pigmentarea devine mai evidentă prin menținerea culturii, în continuare, la temperatura camerei, și prin agitarea mediului (oxigenare); prin învechire, cultura ia o tentă brună. Tulpinile acromogene, defective de ambii pigmenți, sînt rare; unele produc numai un pigment; puține produc pigment roșu; oricare din ele poate fi patogenă.

Piocianina, pigment produs numai de *Ps. pyocyanea*, albastru fluorescent, solubil în apă caldă și în cloroform; producerea piocianinei este favorizată de existența anumitor surse de azot, sulfat de amoniu, asparagină și a ionilor Mg, PO_4, Fe, K_2HPO_4, $MgSO_4$, KH_2PO_4, $FeSO_4$; este catalizator al respirației bacteriene.

Floresceina, pigment galben-verzui fluorescent, solubil numai în apă; în culturi vechi, prin oxidare, devine brun; este produs atît de *Ps. pyocyanea* cît și de *Ps. fluorescens* și alte specii *Pseudomonas.*

Majoritatea tulpinilor sînt beta-hemolitice pe geloză cu sînge de oaie, cal, iepure, cobai.

ACTIVITATEA ANTIBIOTICĂ

Activitatea antibiotică a piocianicului asupra unor coci gram-negativ și pozitiv, bacili gram-pozitiv și asupra multor bacterii gram-negativ, este de mult timp cunoscută. Această activitate ar aparține unui pigment galben, alfa-oxyphenazina, numit și *piocianază* și *piocinei* (bacteriocină), substanță activă asupra altor tulpini din aceeași specie (v. cap. VIII).

CARACTERE BIOCHIMICE

Caractere biochimice diferențiale ale speciilor întîlnite în infecții la om sînt incluse în tabelul 67.

Tabelul 67

Caractere diferențiale ale unor specii *Pseudomonas* întîlnite la om

	Ps. aeruginosa	Ps. stutzeri	Ps. fluorescens	Ps. pseudomallei	Ps. mallei	Ps. cepacia
Nr. cililor	1	1	>1	>1	0	>1
Pigment fluorescent difuzibil	$+^{a}$	$-^{b}$	+	−	−	−
,, galben nefluorescent	−	−	−	−	−	+
Piocianină (albastru-brun, solubilă în cloroform)	$+^{c}$	−	$-^{d}$	−	−	+
Creștere la 41°	+	+	+	+	+	+
,, ,, 4°	−	+	+	+	+	+
Denitrificare	+	+	V	+	+	−
Hidroliza gelatinei	+	−	V	+	+	$+^{d}$
,, amidonului	−	+	−	+	$+^{d}$	−
Rezistență la cetrimid	+		−			
Testul citocrom-oxidazei	±		−			
Reducerea TTC	+		−			
Patogenitate experimentală	+		−			

$+^{a}$ = pozitiv $\geqslant 90\%$ din tulpini; $-^{b}$ = negativ $\geqslant 90\%$ din tulpini; $+^{c}$ = pozitiv $> 10\%$ dar $< 90\%$ din tulpini; ^{d} = există biotipuri care produc pigmenți nefluorescenți (verde, orange, albastru); V = variabil (biotipuri diferite).

VITALITATE

Piocianicul moare în 5—15 min. la 60°C și în 60 min. la 55°C; este foarte rezistent în condiții de mediu extern.

STRUCTURA ANTIGENICĂ

a) *Antigene de specificitate*: piocianicul posedă Ag „H" proteice şi Ag „O" lipopolizaharidice, „endotoxine"; unele tulpini au Ag „K", polizaharid capsular. Au fost puse în evidenţă 10 Ag „O" şi 10 Ag „H", prezente în asociaţii diferite; ele împart specia în 22 serotipuri.

Tipuri fagice: o schemă de lizotipare cu set de 13 fagi antipiocianic a fost pusă la punct de soţii *Meitert* (I. C. Bucureşti).

Serotiparea şi tiparea fagică prezintă deosebit interes pentru diagnosticul de „tulpină periculoasă de spital" (v. cap. X).

b) *Factori de patogenitate*. Piocianicul este o *bacterie condiţionat patogenă*; i se descriu multe agresine (exoenzime), ca: procolagenază, hemolizină, fibrinolizină, lipază, esterază, fosfolipază, lecitinază, proteinază. Aceste activităţi enzimatice rareori sînt prezente, concomitent, la o tulpină. Proteinaza este în special responsabilă de efectul citopatic *in vitro* (pe culturi celulare) şi *in vivo* (distruge matricea de colagen a corneei etc.). Unele tulpini au *capsulă*, factor antifagocitar, piocianază şi piocine, factori de autoselectare.

PATOGENIE

Condiţii ce particularizează capacitatea piocianicului de a produce infecţie:

— contaminarea frecventă a plăgilor şi mucoaselor datorită prezenţei piocianicului în ape, praf, pe obiecte umede de toaletă (v. habitat);

— contaminarea frecventă în spital a organismelor vulnerabile (arşi, leucopenici, bolnavi trataţi cu citostatice şi imunodepresive, caşectici, politraumatizaţi, prematuri, sugari, bătrîni), cu tulpini selectate rezistente la antiseptice şi dezinfectante;

— posibilităţi multiple de inoculare profundă prin cateterisme (arteriale, uretrale, ureterale), intubaţii, bronhoscopii, tuburi de dren;

— contaminări la bolnavi trataţi cu A şi Ch, ceea ce favorizează selecţia tulpinilor multirezistente;

— activitatea antibiotică, datorată elaborării de *piocianază* şi *piocine*, prin care piocianicul elimină alte specii, autoselectîndu-se în plagă.

Autoselecţia permite supraînmulţire şi eliberare de cantităţi mari de enzime proteolitice necrozante, ceea ce duce la însămînţare tot mai profundă în ţesuturi; eventuala interesare a pereţilor vaselor duce la invazie sanguină; (cu cît însămînţarea este mai profundă, acţiunea necrozantă a enzimei triptice este favorizată).

Condiţiile cele mai favorizante apariţiei infecţiilor periculoase cu piocianic sînt în mod special create în spitale în care profilaxia prin curăţenie, asepsie şi antisepsie este înlocuită cu „antibioticoprofilaxie".

PATOGENITATE EXPERIMENTALĂ

Ps. aeruginosa este patogen pentru iepure în inoculare i. v.: 1 ml cultură dă septicemie, paralizia trenului posterior şi moarte în 2—4 zile; cobaiul inoculat i. p. cu 0,5 ml cultură moare în 1—2 zile; şoarecele inoculat

i. p. moare de asemenea cu septicemie. Inoculările s. c. pun în evidență tulpinile foarte patogene care dau abces local și generalizare. (*Ps. fluorescences* nu este patogen pentru animale de laborator).

INFECȚII CU PIOCIANIC LA OM

Datorită condițiilor de contaminare, factorilor și mecanismelor de patogenitate, menționate, piocianicul determină în special supurații (puroiul albastru, cu miros fad), dar și septicemii :

Infecția plăgilor chirurgicale, traumatice și a arsurilor, a oricărei ulcerații (tuberculoasă, canceroasă etc.) ; se pot instala uneori procese progresive cu evoluție foarte gravă ca infecția de tip ectimogangrenos, cu formare de vezicule care se rup și se refac rapid, necroza progresînd atît în suprafață cît și în profunzime.

Infecții ale tractusului urinar, în secții de urologie ating procente ridicate, în raport direct cu numărul de instrumentații și cu gradul de minimalizare a metodelor de asepsie și antisepsie.

Onyxus verde este o suprainfectare cu piocianic a unor onicomize* ; apare la persoane care lucrează mult cu mîinile în apă rece.

Otite și mastoidite cu piocianic sînt frecvente în secții de imaturi.

Gastroenterite holeriforme, la sugarul intens contaminat, cu leziuni necrotice pe colon, uneori perforații, peritonite, moarte.

Infecții bronhopulmonare și pleurale apar consecutiv instrumentațiilor „neîngrijite" (bronhoscopii, intubații, spălături bronșice, spălături pleurale, pneumotorax etc.) ; piocianicul și *Ps. pseudomallei* fac parte din aerobii majori ai pneumoniei necrozante.

Infecții prin medicamente contaminate. Persistența pe alocuri a ideii retrograde că medicamente cu aplicare externă nu trebuie să fie sterile stă la baza unor infecții grave : ulcere de cornee prin colire contaminate cu piocianic, infecții ce pot merge pînă la pierderea globului ocular ; infectarea plăgilor prin soluții și unguente nesterile ; infecții prin anestezice și chiar antibiotice livrate fără controlul riguros al sterilității, sînt citate.

Septicemii, cu punct de plecare de la orice localizare superficială sau pe mucoasă sînt posibile, totdeauna foarte grave, dau marile procente de letalitate la arși.

Localizări secundare : meningite metastatice, sau de propagare (de la otite, sinuzite), artrite, endocardite, foarte grave.

DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIC

Piocianicul fiind prezent pe tegumente și mucoase la 5—15% persoane sănătoase, ca și la bolnavi cu alte infecții, în diagnostic primează *criteriile de implicare ca agent al infecției* ; pentru identificarea prezumtivă a speciei, primează producerea de pigment albastru :

Izolarea în cultură pură a unui bacil gram-negativ producător de piocianină, din produse patologice normal sterile (sînge, l. c. r., puroi din vezicule, colecții închise), este suficient pentru confirmarea infecției cu piocianic. Repetarea hemoculturii (obligatorie pentru orice suspiciune de septicemie) cu reizolarea aceleiași bacterii, este criteriul suplimentar și categoric de implicare ca agent infectant.

---

* Micoze ale unghiilor.

În cazul puroiului din colecții închise (vezicule, l. c. r., puroi din seroase), alături de izolare, punerea în evidență a unor bacili gram-negativ *și în examenul microscopic direct*, este criteriu suplimentar și valoros de diagnostic, și justifică efectuarea antibiogramei pe cultură primară, ceea ce permite orientarea mai rapidă a tratamentului corect.

Urocultura și bilicultura, cantitative, și sputocultura pe spută spălată însămînțată prin metoda diluării progresive (fig. 24 și 79), pot confirma infecția urinară, biliară și respectiv bronhopulmonară.

În cazul puroiului din plăgi și arsuri, criteriul prezumtiv de diagnostic este însăși culoarea lui albastră; însămînțarea se face imediat după recoltare, semicantitativ (fig. 79), pentru evidențierea speciei predominante.

Identificarea speciei se face biochimic (tabel 67) și prin patogenitatea experimentală.

Identificarea de tulpină: identitatea mai multor „izolate" (v. cap. I) din infecții de spital, poate fi demonstrată prin serotipare și/sau lizotipare, (metode încă inaccesibile în LCM).

SENSIBILITATEA LA ANTIBIOTICE ȘI TERAPIE

Piocianicul este natural sensibil la *A* cu spectru larg (v. tabel 19), la polimixine, la combinația sulfametoxazol + trimetoprim + acid ascorbic. Piocianicul capătă cu ușurință rezistență la toate A, prin transfer de fR; majoritatea tulpinilor izolate în prezent sînt multirezistente.

Duncan (1974), pe 1 500 tulpini, găseşte că peste 99% sînt inhibate de 8 μg gentamicină/ml (pentru 64%, CMI fiind între 1,5–2,5 μg/ml), de 250 μg *carbenicilină* (pentru majoritatea CMI fiind între 32–64 μg/ml); 4 din 1 500 tulpini erau inhibate de 4 μg tetraciclină/ml şi două de 4 μg cloramfenicol/ml. Ceva mai multe tulpini erau sensibile la K şi S.

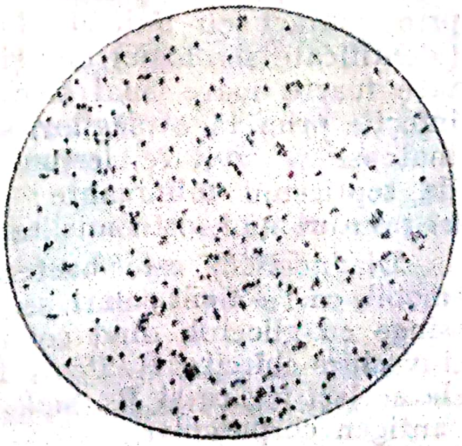


Fig. 111: *Pseudomonas aeruginosa.*

Antibiograma este totdeauna necesară, ca și antibiograme pentru determinarea sinergismului unor asociații de A; adesea în terapie nu este utilizabilă decît asociația carbenicilină (pio-pen) + gentamicină.

Antisepticele sînt preferate în terapia infecțiilor superficiale (plăgi, panariții); folosite în băi calde ori de cîte ori localizarea plăgii o permite, după testarea CMC (concentrație minimă cidă) față de tulpina infectantă; dacă există LCM.

Autovaccinul este citat cu rezultate bune în infecții cronice, la organisme tarate; au fost obținute bune rezultate experimentale.

PROFILAXIA

Profilaxia nespecifică a infecțiilor de spital cu piocianic începe cu (i) închiderea secției pentru întreruperea intercontaminărilor; (ii) formolizarea tuturor încăperilor secției, a saloanelor, cu întregul inventar moale și mobilier, culoare, bucătărie (veselă), WC-uri (scuipători, vase de noapte), săli de baie, obiecte de curățenie etc; (iii) reinstructarea personalului privind metodologia aseptică în îngrijirea bolnavilor, igiena individuală, evitarea intercontaminărilor.

Piocianicul și antisepticele: prin selectare de mutanți rezistenți, tulpinile circulante în spitale devin repede rezistente la antiseptice și dezinfectante. De aceea, este necesară testarea de rutină a efectului cid al concentrațiilor utilizate față de tulpini izolate din infecții (determinarea CMC). În raport de aceste date, se face ciclarea logică a antisepticelor și dezinfectantelor utilizate. În acest scop, se folosesc teste similare celor folosite pentru antibiotice, metoda diluțiilor, pentru determinarea concentrațiilor minime bactericide (CMC) a dezinfectanților.

Vaccinarea cu vaccin polivalent, este considerată azi necesară; experimente, ca acele ale soților *Meitert*, au dat rezultate bune și justifică folosirea în profilaxia de spital a infecțiilor cu piocianic la mari vulnerabili și în arsuri.

2. PSEUDOMONAS PSEUDOMALLEI

Numit și baciul lui *Whitmore*, este agentul melloidozei, zoonoză transmisibilă omului. Bacterie prezentă în sol și ape, contaminează frecvent animalele, pe cale pulmonară, digestivă, a plăgilor. La om, se transmite prin contact cu animale bolnave; determină multe infecții inaparente (identificate serologic) dar și melloidoza, boală similară morvei, cu letalitate foarte mare, mai frecventă la tropice și subtropice; evoluează ca infecție primară a plăgilor, sau pulmonară, cu multiple infiltrate granulomatoase și cavitare, leziuni similare micozelor și TBC-pulmonare. Poate da septicemii fulminante; uneori localizări secundare multiple: abcese în țesuturi moi, osteomielite.

Diagnosticul este bacteriologic și serologic. Bacil scurt, 0,8/1,5 μm, mobil, cu 1—4 cili polari, se colorează adesea bipolar; crește ușor pe geloză-sînge cu glicerol, dînd colonii gălbui-oranj, opace, M-S, care devin prin învechire sbîrcite, R. Poate fi identificat antigenic și prin susceptibilitatea la același fag ca și *Ps. mallei*. Diagnostic serologic prin RFC (se folosește antigen corpuscular).

3. PSEUDOMONAS MALLEI

Bacil imobil, cultivă încet, nepigmentogen. Este agentul morvei, infecție a cailor și măgarilor: inflamație și edem a mucoaselor, nazală mai ales, cu limfadenită granulomatoasă, putîndu-se ulcera, cu evoluție cronică, transmisibilă omului și altor animale (cîine, oaie, capră; nu și bovinelor). La om, boala evoluează, fie acut, fie cronic cu granuloame și ulcere cutanate, abcese pulmonare, asemănător tuberculozei.

Diagnosticul se bazează pe izolarea și identificarea bacteriei și prin test intradermic pozitiv la *maleină* (proteină similară tuberculinei; înaintea lui *Helman* și *Kalning*, care au preparat maleina, 1890–1891, *V. Babeș* a preparat un antigen morvos, cu aceeași utilizare, pe care l-a numit *morvină*, mai pur decît maleina).

BIBLIOGRAFIE

1. ARCHER G., FEKETY F. R.: Experimental endocarditis, due to *Ps. aeruginosa*. 1. Description of a model. *J. Infect. Dis.*, *134*, 1, 1–7, 1976.
2. BAIRD I. M. et all.: Nosocomial infection with gentamicin-carbenicillin-resistant *Ps. aeruginosa*. *Antimicrob. Ag. Chemother.*, *10*, 4, 1976.
3. BLAIR D. C. et all.: Therapy of *Ps. aeruginosa* infections with tobramycin. *Antimicrob. Ag. Chemother.*, *8*, 1, p. 22, 1975.
4. BOTZENHART K., EBEL E. A.: Cytotoxic activity of *Ps. aeruginosa* with regard to lecithinase, lipase, proteinase, hemolysine and surface activity. *Zbl. Bakt. Reihe*, *A*, 225/2–3, 387–392, 1973.
5. CARSONALL. A., FAVER M. S., et all.: Factors affecting comparative resistance of naturally occuring and subculture *Ps. aeruginosa* to desinfectants. *Appl. Microbiol.*, *23*, 5, 863–869, 1972.
6. CROWDER J. G. et all.: Heat stable opsonins in sera of patients with *Pseudomonas* infections. *J. Lab. Clin. Med.*, 83/6, 853–859, 1972.
7. DUNCAN I. B. R.: Susceptibility of 1 500 isolates of *Ps. aeruginosa* to gentamicin, carbenicillin, colistin, and polymixin B. *Antimicrob. Ag. Chemother.*, *5*, 1, 9–15, 1974.
8. GARDNER P., GRIFFIN W. B. et all.: Non-fermentative gram-negative bacilli of nosocomial interest. *Am. J. Med.*, 48, 735–749, 1970.
9. HARANAKA K. et all.: The enhancement of phagocytosis and intracellular killing of *Ps. aeruginosa* and its common antigen (OEP). *Japan. J. Exp. Med.*, *47*, 1, 35–40, 1977.
10. JONES R. J., LOWBURY E. J. L.: Early protection by vaccines against *Ps. aeruginosa* colonizing burns. *Brit. J. Exp. Path.*, *53*, 6, 659–664, 1972.
11. KONO M., SEI S.: Serotyping of *Ps. aeruginosa* isolated from clinical specimens. *Japan. J. Exp. Med.*, *47*, 1, 1–7, 1977.
12. MALIWAN N., GRIEBLE H. G., BIRD T. J.: Hospital *Ps. aeruginosa*: Surveillance of resistance to gentamicin and transfer of aminoglycoside R factor. *Antimicrob. Ag. Chemother*, *8*, 4, p. 415, 1975.

13. MAY W., BURCHARDI H., KILLIAN W.: Epidemiologische Studie zum Problem des *Pseudomonas* Hospitalismus. *Münch. med. Wschr.*, *116*, 3, p. 97, 1974.
14. MEITERT E. și colab.: Cercetări privind imunogenitatea vaccinului corpuscular polivalent *Ps. aeruginosa* la om (voluntari). Ses. St. Anuală I-C. (XIV), București, 1976.
15. NIȚESCU S.: Studiul efectului antibacterian in vitro al unor asociații de antibiotice și chimioterapice. *Teză de doctorat*, IMF Iași, 1974.
16. PEMBERTON J. M., CLARK A. J.: Detection and characterization of plasmids in *Ps. aeroginosa* strain PAO. *J. Bacteriol.*, 114, 1, 424—433, 1973.
17. PICKETT M. J., PEDERSEN M. M.: Nonfermentative bacilli asosociated with man. II. Detection and identification. *Am. J. Clin. Path.*, *54*, 164—167, 1970.
18. PINGUI V. L.: Exotoxins of *Ps. aeruginosa*. I. Factors that influence the production of exotoxin A. *J. Infect. Dis.*, 128, 4, p. 506, 1973.
19. RAWAL B. D., CHARLES B. G.: Inhibition of *Ps. aeroginosa* by ascorbic acid-sulphamethaxazole trimethoprim combination. *Asian J. Trap. Met. Publ. Hlth.*, *3*, 2, 225—228, 1972.
20. RIJNIERSE V. F. M. et all.: Allantoinase and allantoicase synthesis in *Ps. aeruginosa* *Can. J. Microbiol.*, *23*, 5, p. 633, 1977.
21. SATO H., DENA B. B.: A polyvalent *Pseudomonas vaccine*. *Rev. Can. Biol.*, *33*, 2, 93—97, 1974.
22. SEAL D. V., STRANGEWAYS J. E. M.: Gentamicin-resistant *Ps. aeruginosa*. *Lancet*, 1, 7 962, p. 747, 1976.
23. UWAYDAH M. et. all.: Susceptibility of nonfermentative gram-negative bacilli to tobramycin. *J. Infect. Dis.*, 134 (suppl.), 1976.
24. VACHON F.: Septicémies à bacilles pyocyaniques. *Concours Méd.*, 13, 1975.
25. WHITBY J. L., RAMPLING A.: *Ps. aeruginosa* contamination in domestic and hospital environments. *Lancet*, 7 740, p.15, 1972.
26. WRIGHT CH., KOMINOS S. D., YEE R. B.: *Enterobacteriaceae* and *Ps. aeruginosa*. Recovered from vegetable salads. *Appl. Microbiol.*, *31*, 1, p. 453, 1976.
27. ZOURBAS J. et all.: L'infection à bacilles pyocyaniques dans un service de prématuré, et dans deux services de réanimation. *M. P.*, 1, p. 59, 1975.

XXIX. BACTERII ANAEROBE NESPORULATE
(Floră Veillon*)

BACTEROIDACEAE, PEPTOCOCCACEAE, PROPIONIBACTERIACEAE, VEILLONELLACEAE

HABITAT

Numeroase specii strict anaerobe sau microaerofile, nesporulate, gram-negativ și gram-pozitiv, bacili, coci, ca și actinomicete (v. cap. XXXII B) și treponeme (v. cap. XXXIII), trăiesc pe mucoasele tractusului respirator superior (TRS), tractus digestiv (TD) și mai ales în colon la om și la animale (v. cap. V, B 7 și C), de unde și numele de ,,floră anaerobă endogenă''. Alături de celelalte specii, anaerobii nesporulați contribuie activ la procesele de descompunere — digestie — care au loc în intestin. Ca toate speciile prezente în colon (v. tabel 13), ele contaminează și sînt prezente pe tegumentele și mucoasele perineale, pe fața internă a coapselor (durata lor de supraviețuire și densitatea pe tegumente este limitată de cantitatea de apă și săpun folosite pentru igiena personală).

AUTOCONTAMINAREA

Datorită habitatului descris, (i) aceste specii pot contamina ușor plăgile, (ii) prin mecanismele descrise pentru pneumonia pneumococică și prin bronhoscopii pot însămînța pulmonul, (iii) prin diferitele instrumente medicale și mai ales practicile avortului ,,clandestin'' însămînțează frecvent plaga uterină *postpartum* și *postabortum*, (iv) în cadrul chirurgiei pe intestin și ginecologice, pot contamina peritoneul și alte țesuturi.

Numărul de specii și gradul de contaminare (densitatea bacteriilor) variază cu mărimea plăgii traumatice, sau a arsurii ; în cazul plăgilor chirurgicale și uterine, numărul bacteriilor ajunse în plagă este în raport direct cu măsurile de asepsie luate pre- și intraoperator și la naștere.

Posibilitățile de autocontaminare justifică (i) valoarea acordată în chirurgie *antisepsiei preoperatorii a tegumentelor și mucoaselor* pentru prevenirea infecțiilor, mai ales cu astfel de specii necrozante și invadante, ca și (ii) *rigurozitatea alegerii antisepticelor* în intervențiile de urgență pe zonele cele mai contaminate (intervenții obstetricale, ginecologice, pe colon) și în general pentru toate intervențiile chirurgicale și instrumentații medicale (cateterism, endoscopii etc.).

---

* Bacterii studiate inițial de *Veillon* și numite astfel de *Prévot* (v. tabel 68).

COLONIZAREA

Înmulțirea anaerobilor în plagă are loc în măsura în care aceasta oferă condiții de anaerobioză (v. cap. XXX, *Clostridium*), la crearea cărora contribuie efectiv și prezența concomitentă a speciilor aerobe și facultativ anaerobe; odată începută colonizarea, începe și alterarea locală a țesuturilor, necroza, incubația fiind cel mai adesea scurtă. Evitarea colonizării este posibilă prin promptă și corectă toaletă chirurgicală a plăgii profunde (v. cap. XXX), întreținerea igienică a mucoasei buco-faringiene și genitale.

INFECȚII

Gravitatea procesului local depinde de aceleași condiții ca în infecțiile prin bacilii sporogeni ai gangrenei gazoase (v. cap. XXX) și de caracteristicile metabolice ale speciilor. Anaerobii nesporulați produc:

a) **Procese necrozante gangrenoase la poarta de intrare.** *Infecția plăgilor* cutanate, sau pe mucoase, traumatice, sau chirurgicale; *infecții necrozante pulmonare*, plecînd adesea de la infecții cronice tonsilare și de la stomatite gangrenoase, colonizarea fiind favorizată de cauze care paralizează funcția macrofagelor pulmonare (ca edemul pulmonar), a reflexului de tuse (prin anestezice și chirurgie toracică) etc; *infecția plăgii uterine*, frecventă în avortul și chiuretajul clandestin, zis „septic", dar posibil și în maternități, cînd chiuretajul medical și nașterea nu au loc cu toate măsurile posibile* de asepsie; *apendicite* etc.

Infecțiile la poarta de intrare pot fi mixte, date de asociații de specii anaerobe, uneori și sporogene, uneori și specii aerobe sau facultativ anaerobe. Odată create condițiile, mai multe specii de contaminare se pot înmulți, eliberînd enzime necrozante pentru țesuturi; frecvent menționată este asociația numită „fusospirochetică", descrisă mai ales în procese ulcerative pe mucoasa bucofaringeană, date de asociații între specii din genurile *Fusobacterium* și speciile *Treponema* comensale (spirochete).

b) **Bacteriemii și septicemii.** Bacteriemiile sînt consecutive contaminării oricărei plăgi și mai ales plăgii uterine (cu numeroase vase deschise care aspiră bacterii din plagă); septicemiile sînt generate de tromboflebite; în septicemiile din febra puerperală, pînă la 27% sînt mixte, date de două și chiar trei specii, anaerobe, sau și aerobe.

Socul „endotoxinic" complică deseori septicemiile date de anaerobi gram-negativ, pentru care este demonstrată prezența „endotoxinei" în peretele bacterian (v. cap. XX).

c) **Localizări secundare.** Metastaziile sînt postbacteriemice și prin embolusuri septice; posibile în orice organ parenchimatos, pulmon, creier (favorizate de zone infarctate și de metastazii neoplazice), în sistem osos (favorizate de zone traumatizate), pe endocard (favorizate de existența unor leziuni anterioare) și evoluînd cu e. b. s.

---

* Posibil din acest punct de vedere este cît știe fiecare medic.

Speciile mai frecvent implicate în infecții. În tabelul 68, speciile anaerobe nesporulate au fost incluse în ordinea frecvenței cu care sînt găsite și a gravității proceselor determinate.

FACTORI DE PATOGENITATE

În general puțin studiați. Alături de capacitatea metabolică, enzimatică, necrozantă, pentru unele specii au fost puse în evidență factori speciali favorizînd invazia: *B. melaninogenicus* ar elibera colagenază, *Bacteroides fragilis* și specii *Peptostreptococcus* ar elibera heparinază dar și factori trombo-embolici (?); *B. fragilis*, subspecia *fragilis*, posedă o capsulă polizaharidică, demonstrată clinic și experimental ca important factor de virulență*, ceea ce ar corespunde cu frecvența mai mare în septicemii. Toți bacilii gram-negativ anaerobi posedă ,,endotoxină'' (v. cap. XX și XXV).

A. FAMILIA BACTEROIDACEAE

Cuprinde bacilii gram-negativ anaerobi și specii aerotolerante (*B. fragilis*), diferențiați în actuala clasificare în 3 genuri:

1) *Bacteroides* (determină fermentare mixtă cu producere de acizi succinic, acetic, formic, lactic, propionic, cantități mici de acid butiric, izobutiric, izovaleric; variabile de la specie la specie); cuprinde speciile cele mai patogene din această familie.

2) *Fusobacterium* (acid butiric ca produs major; nu produc izobutiric și valeric); cuprinde specii patogene.

3) *Leptotrichia* (acid lactic ca singur produs major de fermentare); specii prezente în gura normală; nedemonstrați ca patogeni.

Mai frecvent** întîlnite în procese gangrenoase și septicemice sînt bacilii gram-negativ din genurile *Bacteroides* și *Fusobacterium*, fiecare cu numeroase specii (tabel 68), și mai ales *B. fragilis*, urmat, ca frecvență, de *F. nucleatum* și *F. necrophorus*. Date statistice afirmă că în prezent pînă la 27% din toate hemoculturile pozitive sînt cu anaerobi, *B. fragilis* fiind prezent în 50—60% din acestea.

B. fragilis este un bacil pleomorf, cu umflături, uneori filamentos (fig. 112); foarte zaharolitic (în bulion cu 1% glucoză coboară *p*H-ul la 5—6); crește bine în medii cu 20% bilă. Tulpinile diferă în ce privește producerea de indol, tipul de fermentare a trehalozei — cu sau fără gaz; fermentează variabil ramnoza, manita; unele tulpini reduc nitrații etc; se diferențiază 5 biotipuri: *B. fragilis* biotip *fragilis* este capsulat.

Pe geloză-sînge dă colonii de 1—3 mm Ø, rotunde, ușor convexe, translucide-semiopace (adesea cu structură în cercuri concentrice); în general nehemolitice pe geloză cu sînge de cal, oaie; foarte puține tulpini pot fi beta-hemolitice; coloniile pot fi S, sau R.

---

* J. Inf. Dis., *130*, 1, 75—85, 1977.

** Ca frecvență în infecții, aceste specii depășesc azi *Cl. perfringens*, și, în general, anaerobii sporulați, față de care se face adesea o seroprofilaxie (v. cap. XXX).

Tabelul 68

Bacterii anaerobe nesporogene, membri mai importanţi ai florei Veillon

Bacili	gram-negativ	BACTEROIDACEAE	*Bacteroides*	*fragilis* (5 biotipuri)	imobili
			,,	*melaninogenes (Ristella nigrescens)*	
			,,	*corrodes*	
			,,	*praeacutus*	
			,,	*biacutus*	
			,,	*pneumosintes (Dialister pneumosintes)*	
			,,	*serpens (Zuberella)*	mobili
				clostridiiformis (Zuberella girans)	
			Fusobacterium	*nucleatum (Spherophorus fusiformis)*	
			,,	*necrophorum (Bacteroides funduliformis)*	
			,,	*glutinosum*	
			,,	*naviforme*	
			,,	*mortiferum*	
			,,	*plauti (Fusobacillus)*	
			,,	*prausnitzii (Capsularis mucosus* şi ,, *zoogleiformans)*	capsulate
Coci	gram-pozitiv	PEPTOCOCCACEAE	*Peptostreptococcus*	*anaerobius (Micrococcus foetidus)*; 0,8 µm∅	
			,,	*micros* (0,3/0,5 µm)	
			,,	*productus* (0,7/1,2 µm∅)	
			,,	*parvulus* (0,3/0,4 µm)	
			,,	*lanceolatus (Diplococcus lanceolatus)*	
			Peptococcus	*asaccharolyticus*	
			,,	*activus*	
			,,	*acrogenes*	
			,,	*constelatus*	
Bacili	gram-pozitiv	PROPIONIBACTERIACEAE	*Eubacterium*	*parvum* imobil	
			,,	*endocarditis (Cillobacterium e.)* mobil	
			,,	*lentum*	
			,,	*alactolyticum (Ramibacterium pleuriticum, R. dentium)*	
			,,	*moniliformis (Cillobacterium m.)* mobil	
			Propionibacterium	*avidum*	
			,,	*lymphophilum*	
			,,	*granulosum*	
			,,	*acnes (Corynebacterium acnes)*	
				jensenii	
		ACTINOMYCETACEAE :	*Actinomyces*	*israeli* (cap. XXXII B)	
Coci	gram-negativ	VEILLONELLACEAE	*Veillonella*	*parvula*	
			,,	*alcalescens*	
Spirochete		SPIROCHETACEAE :	*Treponema*	*vincentii* (cap. XXXIII)	

B. fragilis face parte din speciile dominante în intestin, ceea ce explică frecventele posibilități de contaminare a plăgii uterine; mai rar, prezent în gură. A fost izolat inițial în abces apendicular (apendicite), descris apoi în abcese rectale, infecții urogenitale, răni chirurgicale și multe localizări secundare, infecții gangrenoase ale țesuturilor moi, peritonite, pleurite, artrite, însoțite cel mai adesea de bacteriemii; poate da endocardite.

Speciile *Fusobacterium* (v. tabel 68) sînt frecvent găsite în procese ulcero-gangrenoase ale părților moi (bucofaringiene și genitale), cel mai adesea în asociație cu spirochete (specii *Treponema* comensale ale mucoaselor); de aici, denumirea de asociație *fuzo-spirochetică*, ușor evidențiată în examen direct, citobacteriologic.

Diagnostic*. *Diagnostic prezumtiv rapid* de infecție cu bacili anaerobi gram-negativ este posibil prin (i) examen microscopic direct în frotiu colorat Gram (din puroiul colecțiilor închise, abcese și empieme, chiar din lohii corect recoltate și din aspirat transtraheal**, bazat pe aspecte morfo-tinctoriale diferențiale), coroborat cu (ii) condițiile de creștere a însămînțărilor inițiale (numai anaerobe):

examenul microscopic: bacili gram-negativ foarte pleomorfi, subțiri, palid și neregulat colorați, pledează pentru *Bacteroides fragilis* (fig. 112); forme cocobacilare și diplococi mici pot fi *B. pneumosintes*; bacili mai mari pot fi *B. melaninogenes* (fig. 113)***; bacili lungi, fusiformi pot fi specii *Fusobacterium* (fig. 114); (bacilii gram-negativ sînt ușor diferențiați de anaerobii gram-pozitiv și ca formă; bacilii gram-pozitiv sînt fie bacili mari, groși, uneori sporulați, *Clostridium*, fie bacili subțiri, uneori ramificați, care pot fi specii *Actinomyces*, sau *Eubacterium*);

însămînțările pentru anaerobi sînt obligatorii, în paralel cu cele pentru aerobi și facultativ anaerobi; se practică 2—3 hemoculturi în toate stările septicemice, și 4—5 hemoculturi în stări bacteriemice. Produsele din colecții închise, ca și acelea din procese infecțioase la poarta de intrare (supra-contaminate), sînt însămînțate prin metoda dispersiei semicantitative pe placă cu geloză-sînge incubată anaerob.

Identificarea speciilor este biochimică.

Sensibilitate la antibiotice și chimioterapice. *Sensibilitate (S) naturală:* speciile *Bacteroides* și *Fusobacterium* sînt natural S la peniciline de biosinteză, cefalosporine, ampicilină, spiromicină, clindamicină, lincomicină, cloramfenicol, tetraciclină, rifamicină, polimixine, nitrofurantoin, metronidazol; *B. fragilis* este S la sulfamide.

Rezistența (R) dobîndită: bacilii anaerobi gram-negativ dobîndesc ușor R, de exemplu: 2% tulpini R la E, 20% R la T, unele R la Po etc. Pentru *B. fragilis* se înregistrează cele mai mari procente de R: 100% tulpini R la peniciline, prin producere de beta-lactamază (CMI > 1/μg/ml); majoritatea tulpinilor sînt R la meticilină și oxacilină, ampicilină, cefalosporine; 20—55% sînt R la tetracicline etc.

Antibiograma este totdeauna necesară (deoarece anaerobii sînt supuși mecanismelor de dobîndire a rezistenței la A și selecției de tulpini rezis-

---

* Metode de recoltare și însămînțare în cap. XXX, *B. Clostridium*.

** Speciile anaerobe prevalează pe mucoasele TRS și în gură, de aceea prezența lor în *spută expectorată* nu permite interpretarea corectă, nici în frotiu, nici în culturi.

*** Colonii pigmentate brun-negru.

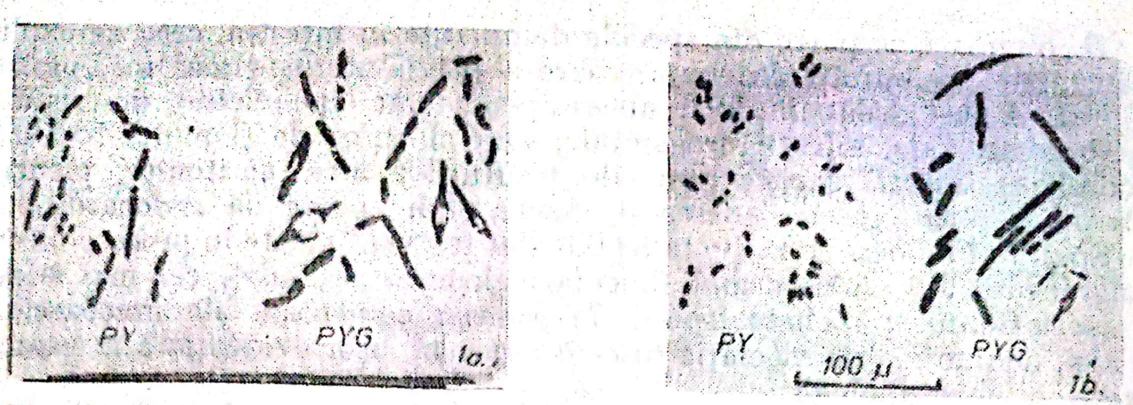

PY
PYG
1a.
PY
100 µ
PYG
1b.

Fig. 112 : *Bacteroides fragilis* (PY = bulion cu extract de drojdie ; PYG = PY + glucoză). Reprodus din *Bergey's Manual*, 1975, p. 891 : 1a. *B. fragilis* subspecia fragilis ; 1b. *B. fragilis* subspecia *vulgatus*.

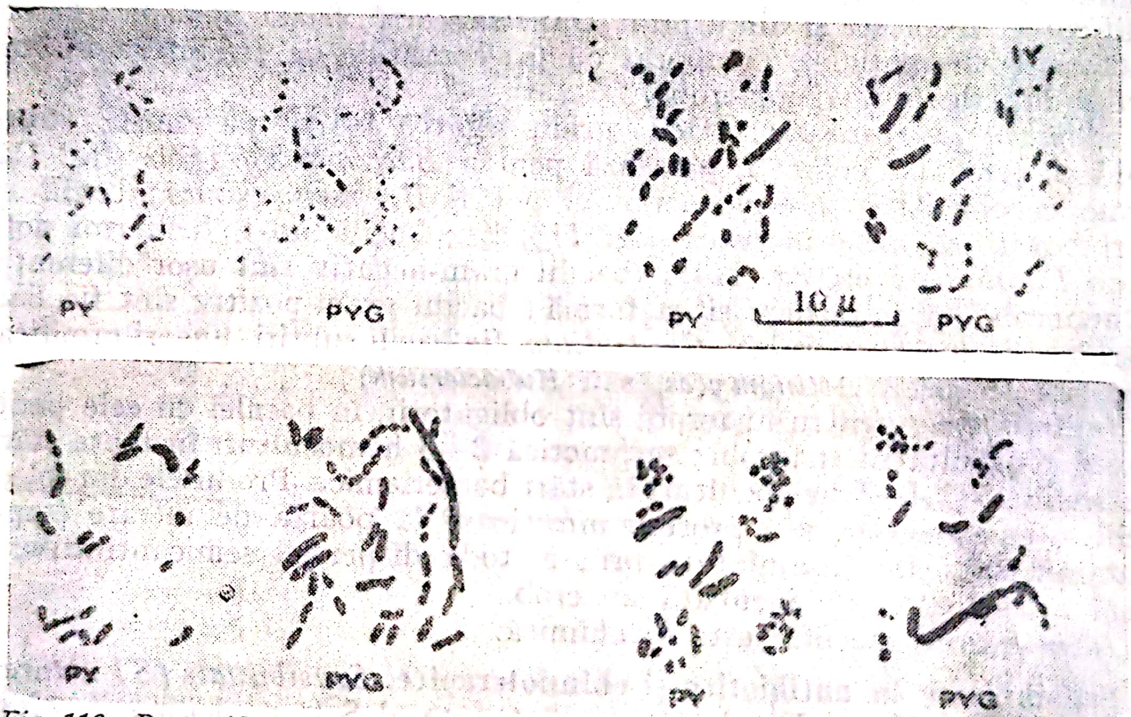

PY
PYG
PY
10 µ
PYG
PY
PYG
PY
PYG

Fig. 113 : *Bacteroides pneumosintes (sus, stînga)* și *Bacteroides melaninogenicus* (*Bergey's Manual* 1975).

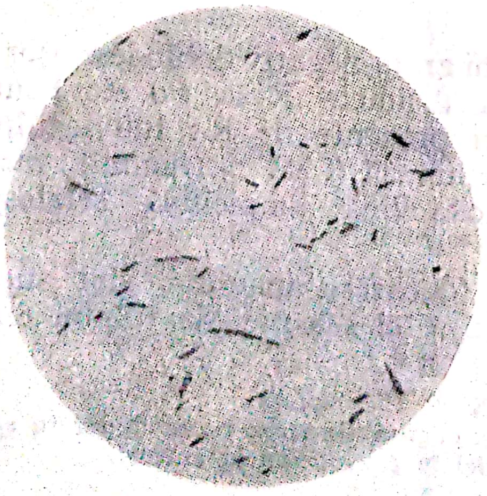


Fig. 114 : *Fusobacterium fusiformis* (fost *Fusiformis fusiformis*) ; (*J. Dumas*, „Bact. Méd.", mise à jour, 1967).

tente); sînt în aceeași măsură indicate antibiograma pe cultură primară (ACP), pentru terapii de urgență, și antibiograme pe culturi purificate (v. cap. XXX, B, 3).

În procent mare (în unele locuri 100%), aceste specii și-au păstrat sensibilitatea naturală la cloramfenicol, nitrofurantoin, metronidazol, clindamicină (CMI $\leqslant$ 0,78 μg/ml).

Date experimentale *in vitro* sugerează *sinergism* deosebit față de *B. fragilis* între metronidazol și clindamicin, sau spiramicin.

Rezistență naturală. Anaerobii sînt natural rezistenți la aminozide: streptomicină (S), kanamicină (K), neomicină (N), gentamicină (G). Unele tulpini de *B. melaninogenes* sînt rezistente la 10—1 000 μg N/ml; tulpini de *B. fragilis* sînt rezistente la 3 200 μg N/ml); sînt rezistente de asemenea la vancomicină (CMI 7,5 μg/ml) și la novobiocină.

B. FAMILIA PEPTOCOCCACEAE

Include toți cocii gram-pozitiv anaerobi; sînt bacterii producătoare de gaz (CO_2, H, H_2S etc.) din produși de descompunere a proteinelor, peptone și aminoacizi, sau/și din carbohidrați. Familia cuprinde:

saprofiți obișnuiți ai mediului extern alcătuind genul *Sarcina*, așezați caracteristic în pachete de 8 coci, sau mai mari (există și tulpini sporulate); nu posedă specii patogene;

saprofiți ai rumenului la bovine și ovine, participînd la fermentarea celulozei, genul *Rumenococcus*, nepatogeni, și

specii prezente frecvent la om, făcînd parte din flora normală a intestinului și mucoaselor, cuprind specii condiționat și accidental patogene, diferențiate în două genuri:

Peptococcus, care cuprinde toți cocii așezați în grămezi neregulate, și în tetrade, de 0,5—1,5 μm Ø, numiți și *stafilococi anaerobi*, și

Peptostreptococcus cuprinde coci anaerobi așezați în lanțuri (lungi, scurte, perechi), de 0,3—1,0 μm Ø, numiți și *streptococi anaerobi*; diferențiem speciile: (v. tabel 68).

Cocii anaerobi sînt lipsiți de factori speciali de virulență, rareori hemolitici, ei sînt bacterii de asociere în procese gangrenoase, se înmulțesc repede în țesuturi deja necrozate, supracontaminează adesea abcese pulmonare, se asociază în amigdalite gangrenoase, sinuzite, abcese dentare, gingivale, apendiculare, vulvovaginale; se înmulțesc adesea în chiaguri și resturi placentare necrotice din plaga uterină *postpartum* și *postabortum*; peptostreptococii, mai ales, ajung adesea în sînge dînd *bacteriemii* cu posibilități de localizare secundară: *peritonite, abces cerebral, osteomielite, endocardite.* Sînt asociați adesea în *gangrena gazoasă postoperatorie*, în miozite posttraumatice, infecția plăgilor profunde.

Peptostreptococcus anaerobius (sau putridus) este specia cea mai frecvent patogenă din această familie. Cultivă în 48—72 ore, în anaerobioză strictă, în bulion glucozat, sau pe plăci cu geloză-sînge incubate anaerob, dînd mai frecvent colonii nehemolitice, cu miros putrid.

Streptococii și stafilococii anaerobi se demonstrează 100% sensibili la pristinamicină, ampicilină, peste 90% la peniciline de biosinteză, la meti-oxacilină, eritromicină, spiramicină, lincomicină, cloramfenicol, nitrofurantoin; această mare susceptibilitate la A este probabil cauza scăderii incidenţei infecţiilor cu aceste specii. Sînt natural R la Po şi la aminoglicozide.

C. FAMILIA PROPRONIBACTERIACEAE

Bacili gram-pozitiv, nesporulaţi, au aspect difteroid, sau filamentos, drepţi, sau ramificaţi, pleomorfi. Cuprind specii anaerobe şi unele aerotolerante. Sînt rezidenţi pe piele, TRS şi în intestin, la cele mai multe specii animale şi la om; prezenţi în mediul extern în produse de origine animală. Multe specii pot da infecţii în ţesuturile moi, similare celor descrise pentru bacilii gram-negativ anaerobi.

Genul **Propionibacterium** include specii imobile, anaerobe pînă la aerotolerante, producătoare de acizi (propionic, acetic etc.) şi CO_2, (prin fermentarea zaharurilor). Unele specii, *P. jensenii*, *P. avidum*, *P. granulosum*, au fost izolate din bacteriemii, din abcese cu foarte diferite localizări (creier, organe, plăgi), din ITU. *P. acnes* populează aproape constant glandele sebacee ca rezident normal; supraînmulţindu-se, prin astuparea porilor, dă uneori acnee; antrenat de ac, sau bisturiu, ajunge în circulaţie putînd da endocardite subacute (e. b. s.). Mulţi adulţi posedă anticorpi faţă de această specie.

Genul **Eubacterium**, cuprinde specii mobile şi imobile, strict anaerobe. Multe specii dau cu totul ocazional e.b.s.: *E. alactolyticum*, *E. rectale*, *E. limosum*, *E. ventriosum*, *E. moniliformis*, *E. parvum*, *E. endocarditis*.

În diferite statistici s-au demonstrat 100% S la A ca pristinamicin, cloramfenicol, nitrofurantoin; $>90\%$ S la peniciline de biosinteză, eritromicine, lincomicină, tetracicline; $>80\%$ S la cefalosporine şi novobiocină. Rezistenţi la Po şi aminoglicozide.

D. FAMILIA VEILLONELLACEAE

Diplococi gram-negativ *anaerobi*; sînt diferenţiaţi în trei genuri:

Acidoaminococcus cu specia, *A. fermentans* (0,6—1,0 µmØ), comensali ai mucoaselor TRS şi vagin, la om şi la porc; probabil nepatogeni;

Megasphera, cu specia *M. elsdenii* (2,5 µmØ), comensal al mucoaselor la ovine, bovine; nu a fost pusă în evidenţă la om;

Veillonella, cu speciile *V. parvulla* şi *V. alcalescens*, prezente pe mucoasele TRS şi vaginală la om; adesea izolate din piorei dentare (ca asociaţi) şi, în mod accidental, mai ales după intervenţii chirurgicale, din sînge. Sînt coci mici (0,3—0,5 µm Ø), în perechi şi uneori în mici grămezi, cu oarecare rezistenţă la decolorare în coloraţia Gram. Cresc bine pe medii uzuale în anaerobioză, cu producere abundentă de gaz; în profunzimea gelozei dau colonii de 1—3 mm, opace, sferice, sau lenticulare; nu sînt hemolitici, nu fermentează carbohidrați. Pentru izolare (diagnostic) se utilizează geloză-sînge, incubată anaerob.

Posedă lipopolizaharide similare „endotoxinelor".

Sensibili la penicilinele de biosinteză și A cu același spectru (macrolide, piostacin), la polimixine și la multe A cu spectru larg (T, C); sînt natural *rezistenți* la oligozaharide.

BIBLIOGRAFIE

1. ACAR J.: Y a-t-il encore des infections à anaérobies? *G. M. de France*, *81*, 11, p. 1 317 1974.
2. BLAZEVIC J. DONNA: Evaluation of the modified broth-disk method for determining antibiotic susceptibilities of anaerobic bacteria. *Antimicrob. Ag. Chemother.*, *5*, 6, p. 721, 1975.
3. BOUVIER L.-M., BEAVFILS F. et all.: Septicémie à *Ristella fragilis* avec localisation pleurale chez un nourrisson. Traitement par la clindamycine. *Rev. de pediatrie*, *XII*, 4, p. 247, 1976.
4. BRORSON J.-E., EDMAR G., HOLM S. E.: Some clinical, immunological and bacteriological observations in a case of pyogenic arthritis due to *Bacteroides fragilis*. *Scand. J. Infect Dis.*, *7*, 3, p. 222, 1975.
5. BUSCH D. F., SUTTER V. L., FINEGOLD S. M.: Activity of combination of antimicrobial agents against *Bacteroides fragilis*. *J. Infect. Dis.*, *133*, 3, 321—328, 1976.
6. DESPAUX E., JEAN JEAN M. F., MAUPEOU E., MANDIN J.: Les septicémies à *Ristella fragilis*. *Méd. Malad. infect.*, *4*, 6, 275—282, 1974.
7. DORNBUSCH K., NORD C.-E., OLSSON B.: Antibiotic susceptibility of anaerobic bacteria by the standardized disc diffusion method with special reference to *Bacteroides fragilis*. *Scand. J. Infect. Dis.*, *7*, 1, p. 59, 1975.
8. FELNER J. M. et all.: Anaerobic bacterial endocardits. *N. Engl. J. Méd.*, *283*, 22, 1 188—1 192, 1970.
9. OLSSON B. et. all.: Formation of beta-lactamase in *Bacteroides fragilis*: cell-bound and extracellular activity. *Antimicrob. Ag. and Chemoth.*, 9, 5, p. 727, 1976.
10. KASPAR D. L.: Chemical and biological characterization of the lipopolysaccharide of *Bacteroides fragilis* subspecies fragilis. *J. Infect. Dis.*, *134*, 1, 59—66, 1976.
11. PRANDI D. et all.: Suppurations intra-abdominales post-opératoires à *Ristella*. Particularités cliniques, bactériologiques et thérapeutiques. *Nouv. Press Méd.*, 14, p. 1 023, 1975.
12. RONALD N. J., FUCHS P. C.: Identification and antimicrobial susceptibility of 250 *Bacteroides fragilis* subspecies tested by broth microdilution methods. *Antimicrob. Ag. Chemoth.*, *9*, 4, 7 719—725, 1976.
13. SAVAGE G. M.: Lincomycin and clindamycin: Their role in chemotherapy of anaerobic and microaerophilic infections. *Infection* 2, 3, 152—159, 1974.
14. SCHOUTENS E., YOURASSOWSKY E.: Septicémies à *Bacteroides fragilis*. *G. M. de France*, *81*, 11, 1 363—1 372, 1974.
15. SCHOUTENS E., BEERS D., YOURASSOWSKY E.: Clindamycin phosphate in severe infections mainly caused by *Bacteroides fragilis*: clinical and microbiological evaluations *Infection* 2, 2, 1974.

16. **SEBLAD M.**: Anaerobic bacteria: classification and species of the future. *G. M. de France, 81*, 11, p. 1 335, 1974.
17. **TRACY O., GORDON A. M.** et all.: Lincomycins in the treatment of *Bacteroides* infections. *Brit. Med. J., 1*, 5 795, p. 280, 1972.
18. **VÂŢĂ A., DIMITRIU ST., TURCU T., ULIANOV M., BEŞLEAGĂ E.**: Consideraţii terapeutice privind tratamentul etiologic al septicemiei cu bacterii anaerobe. În *Actualităţi în patologia infecţioasă*, nr. 4, 196–207, 1975.
19. **VÂŢĂ A., SECU A., TURCU T., CUCIUREANU G., DIMITRIU ST., BEREGOI E. OBREJA E., LUCA V.**: Consideraţiuni asupra 5 cazuri de infecţie neuromeningiană cauzate de bacterii anaerobe. În ,,*Actualităţi în patologia infecţioasă*", nr. 4, 346–352 1975.

XXX. FAMILIA BACILLACEAE

(BACILI SPORULAȚI, GRAM POZITIV)

Familia **Bacillaceae** cuprinde bacteriile gram-pozitiv formatoare de spori; speciile de interes medical fac parte din genurile:

Bacillus, cu specii aerobe, sau facultativ anaerobe, și

Clostridium, cu specii anaerobe, sau aerotolerante.

Sporii acestor bacterii rezistă ani de zile la adăpost de lumină solară și uscăciune, fiind foarte răspîndiți în sol și peste tot unde este praf și întuneric, de unde și denumirea de ,,bacterii telurice". (Parametrii metodelor de sterilizare sînt stabiliți în raport de rezistența sporilor bacterieni.)

A. GENUL BACILLUS

Genul *Bacillus* încadrează aproximativ 50 de specii sporogene, foarte heterogene metabolic, biochimic și antigenic, 22 fiind mai bine caracterizate; sînt bacili mari, drepți, așezați adesea în lanțuri, cu spor central sau subterminal; cresc bine pe medii simple. Majoritatea sînt saprofiți ai mediului extern și ai colonului, ajungînd frecvent și pe alte mucoase, nepatogeni; cîteva specii sînt accidental patogene; *Bacillus anthracis* este singura specie înalt patogenă, epizootogenă, transmisă accidental omului, la care dă îmbolnăviri grave.

1. SPECII BACILLUS NEPATOGENE CU PROPRIETĂȚI IMPORTANTE:

B. stearothermophilus, bacteria cu cel mai rezistent spor, folosit pentru testarea eficienței metodelor de sterilizare prin căldură (cap. VI);

specii termofile, multe, cu înmulțire la temperaturi pînă la 65–75°C, ca *B. stearothermophilus*;

B. circulans, posedă tulpini care difuzează ușor în medii, cu ,,colonii mobile";

specii producătoare de antibiotice polipeptidice (în general toxice):

B. licheniformis, produce bacitracina,
B. brevis, produce gramicidina,
B. polymyxa, produce polimixine.

2. SPECII BACILLUS ACCIDENTAL PATOGENE,

Sporii contaminează seruri, medicamente, alimente, pot germina și se supraînmulțesc; generează uneori infecții sau toxiinfecții, de exemplu:

B. cereus ajunge deseori pe mucoase; seamănă cel mai mult cu *B. anthracis* (tabel 69). A fost descris în bacteriemii și localizări secundare meningeale. Sporul supraviețuiește în alimente (tabel 11) și, în condiții favorabile de temperatură, poate germina; în cazuri de înmulțire excesivă, este cauză de toxiinfecții grave.

B. subtilis și *B. mesentericus* au fost puși în evidență în infecții oculare severe, panoftalmii (generate deseori de coliruri contaminate), rareori în bacteriemii și meningite.

Tabelul 69

Diferențierea speciei *B. anthracis* de alte specii *Bacillus*

Caractere	*B. anthracis*	*B. cereus*	Alte specii
Mobilitate	–	adesea mobil	cele mai multe sînt mobile
Capsulă	+	–	– (rare tulpini cu capsulă)
Lanțuri lungi în culturi	+	lanțuri scurte	lanțuri scurte cel mai adesea
Hemoliză	–	+ (tip β)	majoritatea hemolitici
Colonii mucoide (pe mediu cu ser-sînge, bicarbonatat, incubat în 5–10% CO_2)	+	turtite-aspre	idem
Test cu ser fluorescent anti-capsular	+	–	–
Sensibilitate la fagul *gamma*	+	±	adeseori
Patogenitate pentru animale de laborator.	+	–	–
Proteoliză	tardivă-slabă	+	+, adeseori
Acidifierea glucozei fără gaz	+	+	variabil

3. BACILLUS ANTHRACIS

B. anthracis sau bacteridia cărbunoasă este agentul cărbunelui sau anthraxul, animal și uman.

Istoric. Studiul cărbunelui, nume dat bolii de *Hippocrat*, a preocupat pe medici din cele mai vechi timpuri datorită ravagiilor pe care această boală le făcea printre erbivorele domestice: un cadavru, deschis, de animal mort de infecție cărbunoasă, contaminează solul și vegetalele cu miliarde de bacili care, la aer, se transformă în spori, viabili zeci de ani. Înaintea epocii pasteuriene, erau vestite „cîmpiile blestemate" în care orice turmă, sau cireadă, era rapid decimată, contaminînd și mai intens solul. Luminat de cercetările lui *Pasteur*, care demonstra etiologia microbiană a bolilor contagioase, *Davaine*, în 1863, recunoaște în bastonașul pe care din

1855 îl văzuse în sîngele oilor cărbunoase, agentul etiologic al bolii, denumindu-l *Bacteridium (bacteridie* cărbunoasă).

R. Koch, în 1876, a obţinut culturi pure de bacteridie cărbunoasă folosind medii solide, a observat sporularea, a reprodus boala experimental.

Lui *Pasteur* îi revine însă meritul de a fi descoperit posibilitatea de atenuare a virulenţei bacteriei, prin cultivare la 42°—45°C, şi de a fi preparat vaccinul anticărbunos, care a pus capăt epizootiilor ce desfiinţau şepteluri, aducînd enorme pierderi economice : în 31 mai 1881, a avut loc *celebra experienţă publică de la Pouilly-le-Fort*, cînd *Pasteur* şi colaboratorii au vaccinat 24 oi, 1 capră şi 6 vaci, animale care au supravieţuit infecţiei de probă cu bacteria virulentă, în timp ce, acelaşi număr de martori nevaccinaţi au făcut infecţia mortală.

Datorită măsurilor de profilaxie specifică şi nespecifică, cărbunele este în prezent rar la animale şi foarte rar la om ; apare la muncitori în sectorul agricol şi industrial, sau meşteşugăresc, de prelucrare a pieilor, blănurilor, lînei, ca boală profesională.

MORFOLOGIE ŞI COLORABILITATE

Bacili mari, 4.8/1—1,5 μm, drepţi, cu capete retezate, imobili ; în frotiuri din produse patologice, apar în lanţuri scurte şi capsulaţi, nesporulaţi ; în culturi pe medii simple apar în lanţuri lungi, necapsulaţi, (formează capsulă numai în medii cu ser, bicarbonatate, incubate în atmosferă cu CO_2), sporulaţi, cu spor oval, central, care nu deformează bacteria (bacteridia cărbunoasă sporulează numai în contact cu oxigenul atmosferic, nu şi în organism). Este gram-pozitiv ; în coloraţie simplă sau Gram, sporul şi capsula apar necolorate (fig. 115).

METABOLISM, CULTIVARE

Creşte şi pe medii simple ; este facultativ anaerob. Aspectul coloniilor depinde de virulenţa tulpinii şi condiţiile de cultivare : *tulpinile capsulogene* cultivate pe medii cu ser, bicarbonatate, incubate în atmosferă cu 5—10%

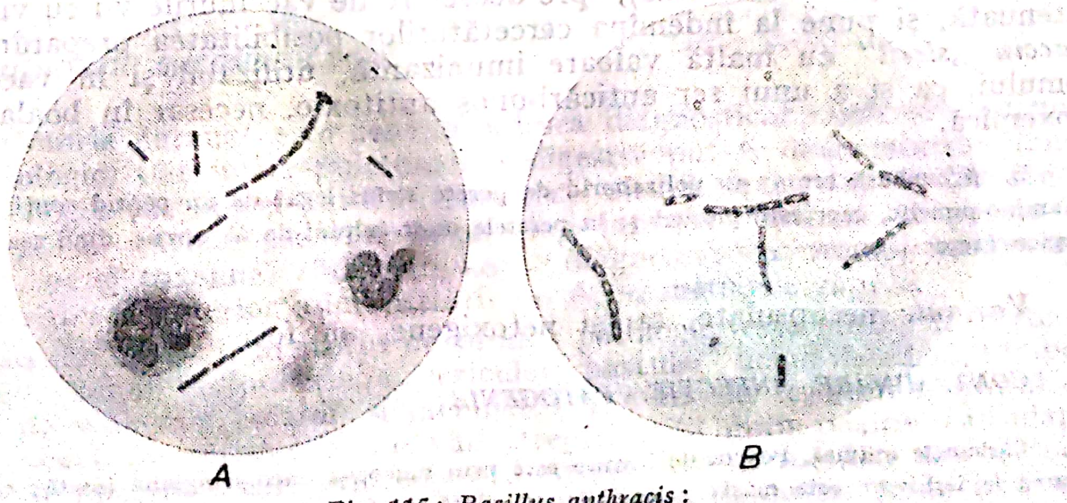


Fig. 115 : *Bacillus anthracis* :
A. frotiu din produs patologic, bacterii capsulate; B. frotiu din cultură, bacterii sporulate (schematizări).

CO_2, formează colonii mucoide, rotunde, mari (4—5 mm Ø); aceleași tulpini cultivate pe geloză simplă și incubate aerob, fără adaos de CO_2, dau colonii de tip R, formate din bacterii fără capsulă; *tulpinile genetic necapsulogene* formează colonii R, indiferent de mediul utilizat; coloniile R sînt foarte caracteristice, ca flori de gheață, cu margini dantelate, „cap de meduză".

VITALITATE

Formele vegetative ale bacteridiei au aceeași rezistență ca și bacteriile nesporogene, fiind distruse în 30 min. la 60°C și în 60 min. la 50°C.

Sporii mor în 10 min. la fierbere, în 3 ore la 140° căldură uscată, în 60 min. în apă oxigenată 3%, în 15 min. în clorură de var 5%, permanganat de potasiu 4%, formol 10%, sodă caustică 2—5% (caldă); mor în cîteva săptămîni în fenol 5%.

La uscăciune și adăpost de UV, sporii rămîn viabili foarte mulți ani, ceea ce explică marele potențial de contaminare al unor soluri.

STRUCTURĂ ANTIGENICĂ ȘI FACTORI DE PATOGENITATE

B. anthracis este o bacterie foarte virulentă și toxigenă.

Virulența aparține capsulei și agresinelor. Capsula este un important factor antifagocitar care asigură enorma înmulțire a bacteriei în organismul infectat; este un polipeptid de acid D-glutamic; (polipeptizi similari pot fi elaborați de unele tulpini de *B. subtilis* și alte specii *Bacillus*). B. cărbunoasă excretă lecitinază și proteaze.

Exotoxina cărbunoasă a fost separată inițial din lichid de edem, plasmă și exsudatele animalelor moarte de cărbune. În ultimul timp, a putut fi obținută *in vitro* în medii bogate în plasmă și carbonat de sodiu; este labilă la căldură; are proprietăți edematogene în injecții i. d.; este letală în injecții i. v. la animale de laborator.

Toxina este compusă din 3 fracțiuni proteice antigenice, fiecare slab toxică; acționînd sinergic dau înalta toxicitate a filtratului. Punerea în evidență a toxinei explică eficiența inconstantă a vaccinurilor corpusculare omorîte (fără anatoxină), spre deosebire de vaccinurile vii cu virulență atenuată, și pune la îndemîna cercetătorilor posibilitatea preparării unui *vaccin „steril"* cu înaltă valoare imunizantă, utilizabil și în vaccinarea omului, ca și a unui ser anticărbunos antitoxic, necesar în boala gravă toxemică.

B. cărbunoasă are și un polizaharid de perete strîns legat de un peptid conținînd acid diamino-pimelic, care este prezent și în peretele unor tulpini de *B. cereus*, dînd reacții serologice încrucișate.

Variante necapsulate, sau/și netoxigene, au fost descrise.

CONTAMINARE. INFECȚIE. PATOGENIE

Cărbunele animal. Poarta de intrare este prin mucoasa bucofaringiană lezată; contaminarea la ierbivore este masivă, sporii ajung odată cu furajele, pătrunderea este favorizată de frecvența soluțiilor de continuitate datorate tipului de alimentație; se explică astfel incidența cea mai mare a bolii la ierbivore (ovine, bovine); numărul mare al sporilor de contaminare și rezistența bacteriei capsulate la fagocitoză este urmată de înmulțirea considerabilă a bacteriei (au fost puse în evidență densități de $3 \times 10^6 - 10^9$ bacterii/ml sînge); aceste bacterii elaborează concomitent toxine; *boala este o septicemie cu toxemie*, cu evoluție hiperacută; letalitate peste 80% (cadavrul deschis permite sporularea bacililor în contact cu aerul și răspîndirea în sol; o pășune astfel contaminată generează cărbune și peste 30 de ani).

Cărbunele uman. Contaminarea omului este accidentală, prin consum de carne, sau prin contact cu produse animale contaminate (blană, lînă, piei), prin sol, îmbrăcînd caracter de boală profesională (cărbune industrial, agricol). Sindromul clinic variază cu calea de contaminare și poarta de intrare:

cărbunele cutanat sau „pustula malignă" apare după pătrunderea sporilor prin soluții de continuitate ale tegumentelor (agricultori, măcelari, tăbăcari, ...); pe un edem întins, nedureros, apare o veziculă „pustulă", care se înconjoară de o coroană de alte vezicule; centrul se necrozează, se formează escara neagră; ganglionii regionali sînt inflamați; este forma cea mai benignă, uneori rămîne în stadiul de infecție locală; este ușor recunoscută clinic și tratată;

cărbunele pulmonar, consecutiv inhalării de spori, apare la blănari, muncitori în industrii de prelucrare a lînii, pieilor, unde au fost descrise mici *explozii epidemice*; se justifică astfel vaccinarea la om, la anumite grupe cu risc; evoluează ca o bronhopneumonie hiperacută, aproape totdeauna mortală (deoarece diagnosticul microbiologic este tardiv solicitat);

cărbunele digestiv, prin consum de carne contaminată (animal tăiat la primele semne de boală, sustragere de la controlul veterinar); evoluează ca o gastroenterită acută, sindrom holeriform, moarte în 1—2 zile.

Oricare este poarta de intrare, cărbunele se poate însoți de *septicemie*; au fost descrise și localizări secundare meningeale.

IMUNITATE

Infecția vindecată determină imunitate, antitoxică și antimicrobiană.

DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIC

Cărbunele cutanat este cel mai adesea diagnosticat clinic și confirmat bacteriologic. Cărbunele pulmonar și digestiv pot fi diagnosticate numai bacteriologic (de obicei tardiv). Deoarece antibioticele duc în 24 ore la dispariția b. cărbunoase din sînge, deși infecția continuă la poarta de intrare, ca și toxemia, eficiente pentru diagnostic sînt numai hemoculturile practicate anterior administrării de A. și metodele rapide.

Diagnostic rapid, în frotiu de produs patologic, este posibil în cărbune cutanat (lichid de puncție a veziculei, pustulei, lichid de edem, tampon umed de spălare a escarei) și meningeal (l. c. r.); în septicemii, frotiul de sînge poate da satisfacții. Se văd streptobacilii gram-pozitiv capsulați; capsulele apar mai bine prin colorații cu albastru de metilen, sau metoda cu tuș de China. Indentificare rapidă este posibilă cu ser imun anticapsular fluorescent, în orice produs inclusiv spută și materii fecale.

Hemocultura se practică la orice bolnav febril, pe medii lichide și solide; astfel poate fi diagnosticat rapid cărbunele pulmonar și intestinal.

Culturi pe medii solide (geloză-sînge, bicarbonatat, incubat în vas cu lumînare) se fac atît din produse monobacteriene (lichide de puncție a veziculei, a edemului, l. c. r.), cît și din produse supracontaminate (spută, materii fecale); în acest caz se practică însămînțarea semicantitativă (v. fig. 24 și 79).

În caz de infecție cărbunoasă, culturile se pozitivează în 12—15 ore.

Identificarea culturilor se face pe baza caracterelor morfotinctoriale, culturale (tabel 69), antigenice (cu ser fluorescent), a patogenității pentru cobai, sau șoarece (suspensie de colonie suspectă, inoculată i. p.) și prin sensibilitatea la fagul „*gamma*".

Un diagnostic rapid se poate obține și prin *inocularea directă a produsului patologic la cobai*; plecînd de la omogenat de spută sau materii fecale, se preia supernatantul care este încălzit (30 min. la 60°) și centrifugat (15 min. la 3 000 g/min.); sedimentul inoculat i. m., sau s. c., la cobai (imunizat pasiv cu 500—1 000 UAI de antitoxină tetanică și cu ser antigangrenos polivalent). În cazul infecției cărbunoase, animalul moare în 36—48 ore cu infiltrat gelatinos la locul de inoculare, intensă congestie a splinei, număr mare de bacterii capsulate în frotiurile din toate organele, în special splină și sînge.

TERAPIE

Terapia cărbunelui este antibacteriană (cu antibiotice) și antitoxică (cu ser imun). B. cărbunoasă este natural sensibilă la practic toate A. cu spectrul de activitate al penicilinelor de biosinteză, ca și la A cu spectru larg. S-a demonstrat existența de rare tulpini rezistente la penicilină și cloramfenicol; se recomandă practicarea antibiogramei ori de cîte ori izolarea tulpinii a fost făcută. Serul anticărbunos antitoxic este indicat în forme toxemice.

PROFILAXIE

Metode nespecifice. Cea mai importantă măsură pentru profilaxia la om este „eradicarea" bolii animale:

— ori de cîte ori este suspectat antraxul, cadavrul animal (fără a fi deschis/necropsiat), va fi îngropat la adîncime de 2 m și acoperit cu var; *bacilii mor rapid în cadavrele nedeschise, datorită proceselor de putrefacție prin flora cadaverică*; *(în schimb, sporularea are loc rapid dacă bacilii sînt expuși la aer)*; astfel, este redus continuu gradul de contaminare a solului;

— soluții de hipoclorit, sodă caustică 5%, fierbinte, sînt de ales pentru dezinfecție în staule, grajduri, în care a fost depistat cărbune.

Pentru controlul antraxului industrial, se impun măsuri riguroase de prelucrare termică, sau decontaminare chimică, a produselor animale: lînă, piei.

Vaccinarea la animale este obligatorie; se folosesc suspensii de bacili vii atenuați (metoda Pasteur), spori vii (vaccin Tencovschi sau Sterne); în regiuni foarte contaminate, vaccinare la 6 luni.

Vaccinarea la om este azi posibilă cu vaccin steril capabil să inducă și anticorpi protectori antitoxici; este recomandată pentru muncitorii în industrii de prelucrare a lînii și pieilor. Vaccinarea omului se practică în URSS, Anglia, S. U. A.

BIBLIOGRAFIE

1. BARZU A. și colab.: Toxiinfecţion alimentaire par *Baccillus* cereus. *L'evolution médicale*, XII, 5, p. 591, 1968.
2. BRACHMAN P. S. et all.: Field evaluation of a human anthrax vaccine. *Am. J. of Public Health*, 52, 1, 632–645, 1962.
3. BRACHMAN P. S. et all.: An epidemic of inhalation anthrax: The first in the twentieth century. *Amer. J. Hyg.*, 72, 6–23, 11. 1960.
4. GLADSTONE G. P.: Immunity to anthrax: Protective antigen present in cell-free culture filtrates. *Brit. Exptl Pathol.*, *27*, 394–418, 1964.
5. GOULLET Ph., ÉPPIN H.: Une septicémie à *Bacillus cereus*. *Nouv. Presse Méd.*, *3*, 38/40 2 490–2 491, 1974.
6. HARRIS-SMITH et all.: Production *in vitro* of the toxin of *Bacillus anthracis* previously recognized *in vivo*. *J. Gen. Microbiol.*, 19, 91–103, 1958.
7. OPRIȘAN A., IANCU L., POP AL.: Stabilirea tehnologiei de prepararea *antigenului cărbunos protector*. *Ses. St. Anuală I. C.* (XIV), p. 165, 1976.
8. PLOTKIN S. A. et all.: An epidemic of inhalation anthrax, the first in the twentieth century. 1. Clinical Features, *Am. J. Med.*, 29, 992–1 001, 1960.
9. STANLEY J. L. et all.: Purification of factors I and II of the anthrax toxin produced *in vivo*. *J. Gen. Microbiol.*, 22, 206–218, 1960.
10. STANLEY J. L., SMITH H.: Purification of Factor I and recognition of a third factor of the anthrax toxin. *J. Gen. Microbiol.* 26, p. 49, 1961.
11. STANLEY J. L., SMITH H.: The three factors of anthrax toxin: their immunogenicity and lack demonstrable enzymic activity. *J. Gen. Microbiol.*, 31, 329–337, 1963.
12. STAMATIN N.: Transduction phagique de la sporogénese chez *B. anthracis*. *Ann. Inst. Past.*, 96, 502–505, 1959.
13. THORNE C. B. et all.: Production of toxin *in vitro* by *B. anthracis* and its separation into two components. *J. Bact.*, 79, 450–455, 1960.
14. * * *: Charbon bactéridien. Sér. Rapp. techn. O. M. S. (Comité mixte FAO/OMS d'expertes des zoonoses. III-ème rapport), 378, 52, 1967.
15. * * *: Charbon human. O. M. S. Relevé épid. hebd., 1976 (16, 17, 27); 1977 (5, 42, 52).

B. GENUL CLOSTRIDIUM

Genul *Clostridium* încadrează aproximativ 95 de specii gram-pozitiv, sporulate, anaerobe, sau microaerofile; mai bine caracterizate sînt 61 din acestea (*Bergey*'s *Manual*, 1975); sînt bacili mari, cu capete rotunjite; au spori terminali, subterminali, sau centrali, a căror diametru depășește pe acela al bacililor, dînd aspecte de „bold”, „rachetă”, „bărcuță”; sporii apar necolorați în colorația Gram (fig. 116); majoritatea speciilor sînt mobile cu cili peritrichi, (avînd variante imobile); cîteva specii sînt imobile, *Cl. perfringens*, *Cl. perene* și altele; exceptînd *Cl. perfringens*, sînt necapsulați.

HABITAT NATURAL

Speciile *Clostridium* sînt prezente în sol și în intestin, la animale și la om. Majoritatea sînt nepatogene, îndeplinind în natură procese importante ca *folosirea amoniului*, *fixarea azotului* (*Cl. butyricum*, *Cl. pasteurianum*, *Cl. acetobutylicum* — producător de acetonă, ca bacterii libere;

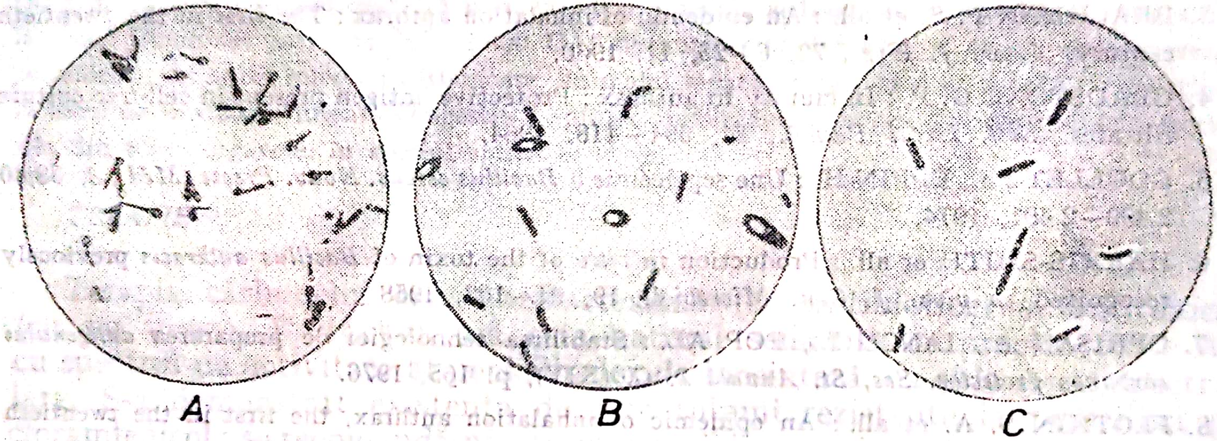


Fig. 116: Specii *Clostridium*: (*A*) *C. tetani*; (*B*) *C. botulinum*; (*C*) *C. perfringens* (capsulat).

Tabelul 70

Agenții clasici ai gangrenei gazoase și speciile *Clostridium* mai rar întîlnite în procese gangrenoase

Agenții clasici și gangrenei gazoase	Specii mai rar prezente în procese gangrenoase	
Cl. histolyticum *Cl. perfringens* *Cl. novyi* A, B *Cl. septicum* *Cl. sporogenes*	*Cl. difficile* *Cl. spheroides* *Cl. carnis* *Cl. innocuum* *Cl. indolis* *Cl. beijerinckii* *Cl. paraperfringens* *Cl. fallax* *Cl. subterminale* *Cl. plagarum* *Cl. tertium* *Cl. cochlearum* *Cl. putrificum* *Cl. perenne* (imobil)	*Cl. novyi* tip C *Cl. ramosum* *Cl. carnis* *Cl. cadaveris* *Cl. pseudotetanicum* *Evid. în inf. gangrenoase la animale:* *Cl. chauvoei* *Cl. limosum*

Cl. rectum, ca simbiont în rizosfera sfeclei), *fermentații acide mixte*, cu înmulțire profuză în prezența carbohidraților, inclusiv celuloza, și a proteinelor și, ca urmare, sînt prezente constant în solurile bogate în îngrășăminte naturale; participă la descompunerea materiei organice, datorită capacității mari zaharolitice și proteolitice (putrefacției), în intestinul și rumenul ierbivorelor *(Cl. sporospheroides)* și în colonul omului *(Cl. perfringens)*; participă la descompunerea alimentelor, la digestie. Specii de interes medical sînt :

speciile toxigene	*Cl. tetani* *Cl. botulinum* și
speciile virulente	*Cl. perfringens* și agenții gangrenei gazoase (tabel 70).

REZISTENȚA SPORILOR

Rezistența sporilor este variabilă de la specie la specie și chiar de la tulpină la tulpină: sporul de *Cl. botulinum* rezistă pînă la 3—6 ore la fierbere, în timp ce sporul de *Cl. tetani* rezistă 10—15 min., iar cel de *Cl. perfringens*, doar 3—10 min; *toți sporii bacterieni sînt omorîți în 18 min. la 120°C căldură umedă (autoclav) și în 25 min la 180°C căldură uscată (Poupinel)**.

Rezistența sporilor (alături de dezvoltarea anaerobă și marea capacitate de fermentație și alterare) pune probleme de sterilizare în industriile de alimente și de medicamente: prezenți în sol, sînt prezenți și pe vegetale alimentare și medicinale; prezenți în colon, ajung în salamuri, în catgut etc. Insuficienta sterilizare a conservelor și condițiile anaerobe create în cutii și borcane ermetic închise, în salamuri, favorizează înmulțirea anaerobilor; conservele sînt uneori la originea intoxicațiilor cu *Cl. botulinum* și a toxiinfecțiilor cu *Cl. perfringens*. Contaminînd soluții injectabile, care nu suportă temperaturi de sterilizare, sînt citate septicemii cu *Cl. perfringens* după injecții cu adrenalină, produs ischemiant; catgutul poate determina ,,tetanosul chirurgical'' etc.

*CULTIVAREA ANAEROBILOR***

Majoritatea clostridiilor sînt anaerobi stricți, *Cl. tetani*, sau aerotoleranți, *Cl. histolyticum, Cl. perfringens*. Cultivă bine pe medii mai bogate în peptonă și carbohidrați***, la temperaturi variind între 15°C și 44°C, atît în profunzime cît și în suprafață, cu condiția asigurării condițiilor de anaerobioză.

---

* Neluînd în considerație timpul de încălzire.

** Metodele de cultivare sînt aceleași și pentru anaerobii nesporulați (cap. XXIX).

*** Metabolismul anaerob este mai puțin eficient decît cel aerob în obținerea energiei din substrat (cap. III).

(i) *Recoltarea produselor patologice în scopul cultivării*, din zone în care se bănuieşte prezenţa anaerobilor (sporulaţi, sau nesporulaţi), se face protejînd produsul, pe cît posibil, de contactul cu aerul:

— din zone normal sterile (flictene, lichid pleural, serozităţi din miozite gangrenoase etc.), recoltarea se face numai cu seringa; cînd cantitatea de produs este mică, se aspiră întîi în seringă 1—2 ml bulion (redus prin fierbere), se elimină aerul într-un tampon de vată, se face puncţia şi se aspiră produsul;

— pentru recoltarea din endometru, se iau măsuri ca proba să nu se contamineze cu flora vaginală (din care nu lipsesc anaerobi şi microaerofili, sporulaţi şi nesporulaţi); după toaleta vaginală şi decontaminarea cervixului cu apă sterilă şi tampoane uscate sterile, se recomandă recoltare cu tub îngust de sticlă, steril, care trece prin endocervix şi ajunge în endometru; această metodă aduce un eşantion mult mai semnificativ pentru flora infectantă decît recoltarea din endocervix cu tamponul. Fragmentele de ţesut (de chiuretaj) conservă de asemenea bine anaerobii.

Pentru transport la distanţă, probele sînt introduse în mediu de transport care asigură supravieţuirea şi a anaerobilor (m. Stuart); cînd mediul şi dispozitivele speciale de transport lipsesc, *însămînţarea şi incubarea se fac „imediat" după recoltare*. (Însămînţările se fac întotdeauna în dublu, pentru incubare aerobă cu 10% CO_2 şi pentru incubare anaerobă).

(ii). *Medii.* Pentru cultivarea în profunzime se folosesc medii glucozate 0,2%: bulion, geloză tare (2%) şi geloză moale (0,5%); pentru cultivare în suprafaţă, se preferă geloza cu sînge defibrinat (5%).

(iii) *Obţinerea anaerobiozei* este asigurată prin înlăturarea oxigenului liber din mediu şi protecţia anaerobiozei obţinute, prin diferite metode, adesea utilizate în combinaţii:

— repartizarea mediilor solide şi semisolide în tuburi înguste (Weinberg) în coloană înaltă; a mediilor lichide în balonaşe cu gît înalt (umplute pînă la jumătatea gîtului), încît contactul cu aerul să aibă loc pe o suprafaţă cît mai redusă în raport cu volumul;

— eliminarea aerului din mediu înainte de însămînţare, prin fierbere timp de 15 min pentru tuburi, 30 min pentru balonaşe (regenerare);

— amestec reducător absorbant (pirogalol 0,5 g + 0,8 ml soluţie saturată de hidrat de Na), într-un săculeţ ataşat la dopul tuburilor (balonaşelor), sau pacheţel ataşat la capacul petriurilor (pentru cultivarea în suprafaţă);

— introducerea unei substanţe reducătoare direct în mediu ca: glucoză 0,2% — se evită cînd se urmăreşte sporularea culturii; cisteină hidroclorică 0,05%; acid ascorbic 0,2‰; acid tioglicolic 0,5‰; piruvat de Na 2‰; muşchi tocat, sau creier (conţine acizi graşi reducători), 1/3 din volumul mediului lichid; tioglicolat de Na 0,1%, inhibant pentru unele tulpini; 0,5 —1 g agar/litru bulion, limitează solvirea oxigenului în bulionul regenerat; cele mai folosite sînt glucoza, cisteina, acidul thioglicolic şi agarul;

— incubatorul pentru anaerobioză (din care oxigenul este redus sau/şi aerul înlocuit cu gaze inerte, propan, azot, metan, sau hidrogen cu 5% CO_2), vase de anaerobioză tip *Mac Intosh* şi *Fildes, Brewer*; incubatorul cu aluminat de paladium, catalizator la rece, care realizează anaerobioza în orice vas închis ermetic (fig. 118) este metoda cea mai comodă, singura care permite folosirea de rutină a însămînţării în suprafaţă, în plăci, pentru anaerobi.

(iv) *Metode de însămînţare şi izolare a anaerobilor şi indicaţii:*

— însămînţarea în suprafaţă, este foarte valoroasă pentru diagnostic la bolnav prin specii virulente, *Cl. perfringens* etc., permite însămînţări semicantitative[*] pentru diferențierea infectantului din produse supracontaminate, permite diagnosticarea proceselor gangrenoase date de *asociații de bacterii* anaerobe, sau/și aerobe, permite practicarea antibiogramei difuzimetrice;

— hemocultura se face în mediu lichid și pe mediu solid; ea *este obligatorie în toate suspiciunile de gangrenă gazoasă, febră puerperală, ori de cîte ori se bănuiește o infecție bacteriemică-septicemică*; este urmărită atît pentru punerea în evidență a anaerobilor sporulați cît și nesporulați și practicată întotdeauna, în paralel, cu hemocultura incubată aerob;

— în cazuri speciale, pentru izolarea clostridiilor toxigene, se folosesc medii selective, cu neomicină[**] (exemple, izolarea *Cl. botulinum* din aliment, vărsătură, scaun); izolarea *Cl. tetani* din plagă, sau din produsul recoltat *post-mortem*, din catgut (pentru stabilirea responsabilității apariției tetanosului chirurgical, sau *neo-natorum*);

— metode, mai vechi, de izolare a clostridiilor pe baza sporulării din produse contaminate (aliment și spălătură gastrică cu suspiciune de botulism; serozități din plagă, crustă, țesut excizat, catgut, comprese, ghips etc. cînd este căutat b. tetanic, sau agenții gangrenei gazoase); se fac însămînțări pe medii neglucozate urmărite pînă la 30 zile (luînd zilnic 2—3 ml de mediu, bine agitat, care se încălzesc 30 min. la 70°C pentru distrugerea speciilor nesporogene asociate, se reînsămînțează pentru obținerea de culturi pure, pentru a fi identificate).

(v) *Aspectul culturilor.* Culturile de anaerobi nu prezintă aspecte caracteristice de specie:

— tulbură bulionul cu formare de sediment bogat și degajare de gaz;

— în geloză tare (2%), în profunzime, toate speciile dau colonii sferice-lenticulare, uneori spinoase; speciile zaharolitice dislocă mediul prin producere de gaze;

— în geloză moale (0,5%), în profunzime, speciile ciliate dau colonii pufoase ce invadează rapid tot mediul, care devine tulbure omogen, respectînd zona aerobă de la suprafață, aproximativ 2 cm; *Cl. perfringens* și variantele imobile ale speciilor mobile dau colonii lenticulare-sferice.

P. Condrea a descris pentru prima dată aceste aspecte: bacteriile anaerobe ciliate dau în geloză moale colonii difuze ,,D", speciile și variantele neciliate dau colonii lenticulare,,L"; și a descris existența de *bacterii ciliate dar imobile*, care dau, de asemenea, colonii ,,L" (fig. 117);

— pe geloză-sînge, în suprafață, *Cl. perfringens*, imobil, dă colonii mari, rotunde, bine delimitate; speciile mobile dau colonii cu tendință de extindere, de ,,roire", cu contur neregulat ,,ameboid" *(Cl. sporogenes)*, filamentos *(Cl. botulinum)*, în picătură de rouă *(Cl. histolyticum, Cl. novyi)*; toate sînt hemolitice, cu variații de intensitate.

---

[*] *Metoda de însămînțare prin dispersie semicantitativă* (fig. 79) este obligatorie (i) ori de cîte ori se pune problema unui diagnostic clinic de infecție cu bacterii condiționat, sau accidental patogene, aerobe, sau anaerobe, prezente constant sau aproape constant pe mucoase-tegumente, în intestin, folosind produse supracontaminate, și (ii) pentru că o bacterie va fi totdeauna inhibată în creștere (sau anulată) dacă alte specii cu vitalitate mai mare sau în număr mare, sînt prezente în același produs.

[**] Medii lichide, sau plăci cu geloză-sînge, cu 100 µg neomicină/ml (la o,5 g neomicină-sulfat se adaugă 1 ml apă distilată, se solvă și se folosesc 0,3 ml pentru 1 litru de mediu).

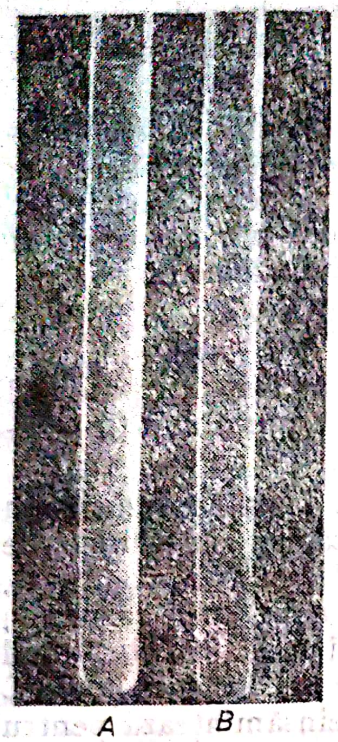


Fig. 117: Bacterii anaerobe cultivate în geloză moale, în tuburi Weinberg:

A. *Tetanomorphus* variantă mobilă, colonii D (difuze); B. *Tetanomorphus* variantă imobilă, colonii L (lenticulare) (*P. Condrea, E. Duca, Al. Petrovici*)

IDENTIFICAREA SPECIILOR *

Identificarea tulpinilor izolate se face pe baza morfologiei, a poziției sporului (fig. 116), mobilitate (în geloză moale, sau microscopic), comportament biochimic (tabel 71), punerea în evidență a exotoxinei (pentru bacilii tetanic și botulinic), sau a exoenzimelor, lecitinază (pentru clostridiile gangrenei gazoase), prin teste de patogenitate și imunologic (prin teste de seroneutralizare),

SENSIBILITATE LA ANTIBIOTICE

Antibioticele (A) acționează numai asupra formelor vegetative. Ca și alte bacterii gram-pozitiv, clostridiile sînt *natural sensibile* la toate penicilinele de bio- și semisinteză, la macrolide, lincomicină, clindamicină, pristinamicină, virginamicină, la unele A cu spectru larg (cefalosporine, rifamicine, cloramfenicol, tetraciclină), la chimioterapice (metronidazol, nitrofurantin). Sînt *natural rezistente* la polimixine, novobiocină și la aminozide (neomicină, kanamicină, streptomicină, gentamicină); această rezistență este folosită pentru prepararea de medii selective și la izolarea din produse supracontaminate cu aerobi prin metoda antibiogramei pe cultură primară.

Diferite procente de *rezistență dobîndită* (20—30% și chiar mai mult) au fost puse în evidență pentru penicilină G, eritromicină, tetracicline.

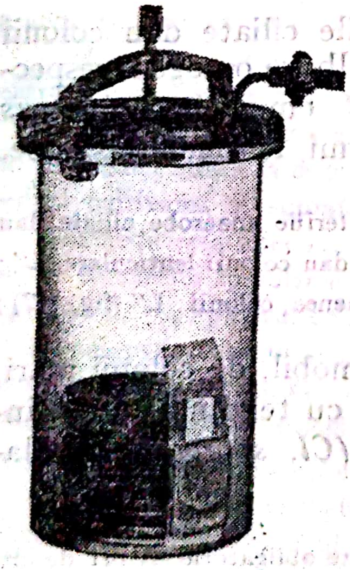


Fig. 118: Vas tip *Brewer* pentru incubarea anaerobă a plăcilor Petri.

1. CLOSTRIDIUM BOTULINUM

HABITAT. CONTAMINARE

Cl. botulinum a fost izolat prima dată de *Ermengenn* în 1896 dintr-un jambon alterat care a provocat 23 de îmbolnăviri; *botulus* = cîrnat; (cutia de conserve nu era încă generalizată).

---

* Vezi cap. XXIX, criterii de identificare ca anaerob.

Din 1910 au fost izolați și alți bacili botulinici producători de toxine antigenic diferite de aceea produsă de bacilul lui *Ermengenn*, care a fost desemnat tip A ; celelalte fiind tipurile B, C, D, E, F și G ; toate determină sindroame clinice și experimentale practic identice ; dar, fiecare toxină este neutralizată numai de antitoxina omologă.

Tipul B, izolat prima dată de *Leuch* în 1910, a fost evidențiat pe tot globul în sol, la numeroase specii animale, dar mai ales în intestin de porc *(botulus)* ; *tipul C* a fost izolat mai ales de la păsări, animale mici, șobolan, pisică ; *tipul D*, de la bovine, equine, la care dă multe îmbolnăviri, din sol, apă, vegetale ; *tipul E*, izolat exclusiv de la pești ; *tipul F*, dintr-un *pâté* de ficat care a dat infecție la om ; *tipul G*, numai din sol.

Sporii de b. botulinic au fost regăsiți în sol, pe vegetale, în intestin la om, ierbivore, păsări, pești, în plăgi infectate, în conserve (inclusiv cutii ermetic închise) de legume, fructe, carne, în saramuri și afumături etc.

Botulismul este frecvent generat la animale prin ingestia sporilor odată cu hrana vegetală, apa, dînd cazuri sporadice și epizootii.

STRUCTURĂ ANTIGENICĂ. EXOTOXINELE BOTULINICE

B. botulinic posedă antigene celulare O și H (fără importanță practică), exoenzime-agresine proteolitice, lecitinază, hemolizină, dar invazivitatea lui la om este cel mai adesea nulă ; rare *toxiinfecții* prin plagă contaminată, tip gangrenos, au fost diagnosticate.

Botulismul este cel mai adesea o intoxicație prin toxine ingerate (febra lipsește). Toxinele botulinice sînt neurotoxine și cele mai puternice toxine cunoscute ; sînt proteine inactivate în 10 min la fierbere. Cantitatea de toxină eliberată variază de la tip la tip, de la tulpină la tulpină, și în raport cu mediul folosit : în culturi, se obțin 2.000.000 pînă la 200.000.000 DL$_{50}$ șoarece/ml mediu. Pentru om, cel mai toxigen este tipul A, iar toxina are cea mai mare capacitate de fixare pe țesuturi, încît, rareori poate fi pusă în evidență în sîngele bolnavului ; dă cel mai mare procent de letalitate ; toxina B se fixează mai greu pe celule, poate fi găsită în sînge (pînă la 80 DL$_{50}$ șoarece/ml), procent de letalitate mai redus.

BOALA LA OM

Botulismul este o boală rară, fie o toxiinfecție consecutivă contaminării unei plăgi, rareori demonstrată, fie intoxicația alimentară, clasică, prin ingestie de toxină : eliberată în conserva insuficient sterilizată și care oferă condiții de anaerobioză pentru germinarea sporilor, înmulțirea bacteriei și eliberarea de toxină ; se spune că ,,boala a fost inventată", odată cu metodele de conservare.

La om, boala poate fi dată de toate tipurile ; cele mai multe intoxicații fiind date de tipul A (pe tot globul, dominant în America) și tipul B (dominat în Europa, Asia, singurul pus în evidență în țara noastră) ; mai rare sînt intoxicațiile cu tipul E (descrise în URSS, Germania, Franța, Japonia, numai prin conserve de pește) și tipul G (USA, Franța, Rhodesia) ;

o singură dată au fost evidenţiate intoxicaţii la om cu tipul D (Ciad, Africa) şi F (Danemarca).

Toate tipurile dau intoxicaţii la diferite animale. În ţara noastră, în ultimii ani, au fost diagnosticate unul pînă la 19 cazuri pe an, apărute în 1—3 focare epidemice, cu tipul B.

În toate tipurile de botulism, perioada de incubaţie, evoluţia şi letalitatea sînt în raport direct cu cantitatea de toxină ingerată şi tipul de toxină: ingestia de doze mortale determină simptome după 12—36 ore; letalitatea în boala netratată atinge 60—80% (bacilul poate invada *post-mortem*, cadavrul).

Toxinele botulinice, rezistente la aciditatea gastrică şi la enzimele proteolitice gastrointestinale ajung nealterate în intestinul subţire, de unde (pe cale sanguină, limfatică) pătrund în circulaţie şi se adsorb pe terminaţiile nervilor motori mai ales cranieni;

boala simulează denervare, cu paralizii, cel mai frecvent a muşchilor acomodării[*], disfagie, dizartrie, uscăciunea gurii şi vălului palatului, cu constipaţie, uneori vărsături (aliment alterat), retenţie de urină prin paralizii musculare; fără modificări senzoriale; procesele mintale păstrate; în absenţa complicaţiilor cu bacterii condiţionat patogene, febra lipseşte; moarte prin paralizia muşchilor respiratori, pneumonii, bronhopneumonii secundare, prin implicarea muşchiului cardiac.

DIAGNOSTICUL

Cel mai adesea diagnosticul este epidemiologic, simptome similare la un grup de indivizi care au consumat acelaşi aliment conservat, şi clinic (mai ales în cazurile izolate).

Confirmarea botulismului se poate face prin punerea în evidenţă a toxinei în alimentul suspectat, în vărsătură, scaun (purgat), sau/şi în serul bolnavului, prin *test de patogenitate*, şi identificare prin test de *seroneutralizare* (permite identificarea tipului de toxină şi, ca urmare, înlocuirea serului polivalent antibotulinic în terapie, cu antitoxina specifică de tip).

Testul de seroneutralizare. Produsele patologice solide (carne) sînt triturate şi diluate în cîţiva ml SF; pentru cele lichide se foloseşte filtratul sau supernatantul de centrifugare (de vărsătură, conservă de vegetale etc.); cîte 0,5 ml se injectează s. c. la cîte 2 şoareci, imunizaţi pasiv (cu 1—2 ore anterior), pe cele i. p., cu cîte 300 UAI din serurile antibotulinice A, B, E. Urmărire pînă la 5 zile; serul folosit pentru imunizarea şoarecilor supravieţuitori indică tipul de toxină botulinică din produsul examinat şi, deci, serul monospecific cu care trebuie înlocuit serul polivalent. Martorii şi animalele imunizate cu alte seruri fac intoxicaţii mortale precedate de paralizii: şoarecii mor cu paralizia trenului posterior; cobaii mor cu paralizia muşchilor abdominali, tulburări de deglutiţie şi respiratorii; pisica face paralizia muşchilor acomodării şi a membranei nictantă, diaree.

(Dacă există suficient produs patologic şi prima testare nu a identificat toxina, se poate relua testul şi cu serurile C, D, F).

---

[*] Diplopie, midriază, nistagmus, oftalmoplegie.

ANTITOXINE, BOTULINICE, TERAPIE

Serurile antitoxice se prepară pe cal, ca seruri monospecifice, prin injecții cantitativ progresive de anatoxine: 1 UAI este cantitatea de ser care previne moartea cobaiului injectat cu 100 DLM de toxină. Serurile antitoxice sînt furnizate în amestec (AB, ABE) și ca seruri monospecifice (A, B, E, C); se conservă foarte bine.

Terapia intoxicației botulinice este *patogenetică* și *specifică* și constă în (i) îndepărtarea toxinei neabsorbite din tubul digestiv (prin spălături gastrice și purgare rapidă cu purgative saline în doze mari) și (ii) neutralizarea cu antitoxine (ser mixt AB sau ABE, ser monospecific după obținerea testului de neutralizare). Serul se administrează cît mai repede posibil după diagnosticul clinic-epidemiologic, deoarce *antitoxina neutralizează numai toxina liberă*; (asistența respirației, a cordului, sînt esențiale). Cunoscînd pericolul manipulării de toxine și tulpini toxigene pentru personalul laboratoarelor de specialitate, de interes pentru terapia intoxicației botulinice apar datele privind alte eventuale posibilități terapeutice (guanidina).

ANATOXINA BOTULINICĂ, PROFILAXIE

Profilaxia nespecifică a bolii este o problemă de igienă a alimentației și constă în *evitarea ingestiei de toxină*: (i) *sterilizarea corectă a conservelor*, de casă și în special industriale; (ii) *manipulare curată în abatoare*, pentru evitarea revărsării conținutului intestinal peste carne (bovine, porcine, păsări, pești) și peste icre (68 cazuri de botulism citate în 1976 prin pește și caviar); (iii) inactivarea toxinei prin fierberea alimentelor minimum 10 min.

Profilaxie specifică: anatoxinele botulinice sînt foarte bune vaccinuri; imunizarea activă este indicată la anumite grupe de risc: cadrele din laboratoare de specialitate în care se prepară antitoxine pentru diagnostic și terapie, anatoxine, și care manipulează tulpini toxigene și toxine botulinice (vaccinări în crescătorii de animale prețioase).

Seroprofilaxia se practică la indivizi care au consumat din alimentul care a dat îmbolnăviri la alte persoane (după practicarea i. d. r. de depistare a stării de sensibilizare pentru serul de cal, și eventual, desensibilizare tip Besredka).

2. CLOSTRIDIUM TETANI

Bacilul tetanic a fost pus în evidență pentru prima dată în pămîntul de grădină de către *Nicolaïer* (1884) care a reprodus și boala la animale. Cultura pură a fost obținută în 1889 de *Kitasato*. *Faber* a demonstrat toxicitatea filtratelor de cultură. *Behring* și *Kitasato* (1890) au descoperit antitoxina tetanică prin proprietatea neutralizantă a serului animalelor imunizate. *Roux* și *Nocard* (1892–1893) prepară serul antitoxic pe cal. *Ramon* (1923–1925) a preparat anatoxina tetanică, cel mai eficient vaccin de care dispune astăzi medicina. Studii importante privind structura antigenică a bacilului și a toxinei tetanice au fost făcute în țara noastră de *Petru Condrea* (1888–1967); el a perfectat metode de obținere a unor valoroase anatoxine şi antitoxine tetanice şi a militat pentru introducerea vaccinării în ţara noastră, mai ales la gravide, program care a început în 1961.

Programul de imunizare antitenică în ţara noastră, deşi nu a cuprins încă şi toţi adulţii, a scăzut deja morbiditatea prin tetanos de la $5-7^0/_{0000}$ (între anii 1953—1959, cu rată de fatalitate 50%), la $0,27^0/_{0000}$ în 1974, adică 56 cazuri (*Roman* şi *Biberi-Moroianu*, 1975); numărul mic de cazuri apare numai la nevaccinaţi. Vaccinarea sistematică a copiilor va reduce mereu această incidenţă.

În concluzie, cea mai importantă sarcină care revine medicilor în prezent privind tetanosul este întreţinerea acestor rezultate prin aplicare consecventă a indicaţiilor de vaccinare emise de Institutul Cantacuzino şi Ministerul Sănătăţii.

MORFOLOGIE ŞI COLORABILITATE

Bacili de obicei lungi şi subţiri (2,4—5/0,5—1,1 μm), uneori prezintă forme mai scurte sau filamentoase, dispersaţi în cîmpul microscopic; sporul este terminal, sferic, de 1,5—2 μm Ø, bacteria sporulată ia aspect de „bold" (fig. 116 A) prin coloraţiile obişnuite, sporul tînăr se colorează complet, la sporul matur se colorează numai conturul. Sînt gram-pozitiv în produs patologic şi culturi tinere; în culturi vechi devin gram-negativ. Au 30—100 cili peritrichi care pot fi puşi în evidenţă prin metode speciale (fig. 13); sînt foarte mobili în mediu anaerob; variante imobile au fost puse în evidenţă.

CARACTERE BIOCHIMICE

Este anaerob strict, slab proteolitic şi zaharolitic; produce prin cultivare CO_2, H_2, NH_3, SH_2, indol, acid acetic (tabel 71).

Tabelul 71

Caractere diferenţiale ale celor mai importante specii patogene pentru om ale genului *Clostridium*

Specii	exotoxine speciale	digestia caseinei	lecitinază	colagenază	glucoza	manoza	maltoza	lactoza	salicina	sucroza	mobilitate	spor sferic-terminal	spor oval-subterminal sau central	capsula
Cl. tetani	+	−	−		−							+		
Cl. botulinum A	+	+	−		+	−	V	−	V		+		+	
Cl. botulinum B	+	V	−V		+	V	V	−	V		+		+	
Cl. perfringens	−	−	+		+	+	+	+	V	+	−		+	+
Cl. histolyticum	−	+	−	+	(A)	−	(A)	−	−	−	+		+	
Cl. septicum	−	−	−		+	+	+	+	V	−	+		+	
Cl. novyi tip A	−	−	+		+	−	V	−	−	−	+		+	
Cl. sporogenes	−	+	−		+	−	V	−	V	−	+		+	

+ = acidifiere cu gaz; A = acidifiere

HABITAT ŞI CONTAMINARE

Sporii de b. tetanic sînt frecvent prezenţi în sol, praf, noroi, în intestin la numeroase animale, mai ales ierbivore, şi la om; contaminează frecvent plăgi mai ales pe cele murdărite cu pămînt.

Colonizarea şi eliberarea toxinei. Cu toată frecvenţa sporilor în sol şi intestin, tetanosul la nevaccinaţi este rar, deoarece apariţia lui este condiţionată de:

(i) *anaerobioza din plagă*, necesară germinării sporilor, colonizării şi elaborării de toxină; astfel de condiţii sînt oferite de plăgile mari, anfractuoase, cu ţesuturi zdrobite, sfaceluri, zone neirigate, în care au pătruns pămînt, corpi străini, schije, fragmente de îmbrăcăminte, cum sînt rănile de război, prin traumatisme rutiere, dar şi plăgi *mici* tăiate, înţepate, rosături, mai ales în plantă, arsuri, în care se formează mici hematoame, mici cavităţi închise;

(ii) *prezenţa concomitentă a florei aerobe*;

(iii) raritatea bolii se explică şi prin procentul mare de *imunizări oculte* prin dozele subletale adsorbite din intestin care, după *Veronezi* şi colab., ar interesa pînă la 88% din indivizi.

Tetanosul neonatorum sau ombilical apare prin contaminarea plăgii ombilicale; *tetanosul puerperal*, prin contaminarea plăgii uterine *post partum* sau *post abortum*; *tetanosul chirurgical*, azi excepţional, are ca origine material de sutură, catgutul (intestin de oaie), care nu suportă temperaturi eficiente de sterilizare şi, mai rar, defecţiuni de sterilizare a instrumentarului, compreselor, gipsul pentru imobilizarea fracturilor, talc etc; alte origini pot fi *intervenţii chirurgicale pe intestin, extracţia dentară* şi, în general, orice intervenţie pe cavităţi deschise, septice, arsuri la persoane neprofilactizate antitetanic. Este citat tetanos avînd ca poartă de intrare ulceraţii ale mucoasei intestinale.

În condiţii normale de oxigenare, sporii pot persista în ţesuturi luni şi ani. În plaga ,,tetanigenă'' (anaerobă), sporii germinează, bacilii se înmulţesc (discret).

INTOXICAŢIE

Toxina elaborată este transportată în organism sau pe cale sanguină, sau pe calea nervilor motori, se fixează pe elementele neurale pentru care are o mare afinitate, acţionînd printr-o abolire sau diminuare a inhibiţiei sinapsei, ceea ce determină o stare de excitaţie permanentă, tradusă prin contracţii spasmodice a musculaturii striate, la început intermitente, care devin continue, foarte dureroase = tetanosul. Tetanosul este localizat iniţial la musculatura din regiunea rănii, difuzarea ulterioară a toxinei la etaje superioare ale SNC duce la generalizare, tablou clinic dramatic, îmbrăcînd cel mai adesea forma ,,descendentă'': contracţiile dureroase cuprind întîi maseterii, muşchii cefei, ai şanţurilor vertebrale, braţelor, abdomenului, membrelor inferioare. Moartea survine cel mai adesea prin asfixie, datorită contracturii muşchilor toracici şi ai diafragmului.

Vindecarea are loc fără sechele, dar şi fără imunizare deoarece cantitatea care determină boala este mult mai mică decît cea imunogenă, nu ajunge în cantitate eficientă la SCIC. Imunizarea antitetanică se obţine numai prin vaccinarea cu anatoxină; se practică şi la bolnav.

STRUCTURA ANTIGENICĂ ŞI TOXINA TETANICĂ

B. tetanic este o bacterie toxigenă, nevirulentă.

Posedă antigen somatic ,,O'' specific de specie şi antigene ciliare ,,H'', care împart specia în cel puţin 10 tipuri antigenice (fără importanţă practică). Nu posedă factori de invazie şi nu invadează organismul.

Exotoxina tetanică. Bacilul tetanic eliberează o exotoxină, otravă foarte puternic neurotoxică *(tetanospasmina)* şi o hemolizină oxigen-labilă *(tetanolizina)*. Toate tipurile de b. tetanic secretă aceeaşi exotoxină, imunologic identică. Exotoxina reprezintă singurul Ag de patogenitate a bacteriei şi, totodată, cel mai important Ag de specificitate în baza căruia se face identificarea tulpinilor toxigene; există şi variante netoxigene.

Toxina tetanică este o proteină, 67 000 gr. mol; purificată, conţine 70 000 000 DL_{50} şoarece/mg. Cantitatea de toxină elaborată variază considerabil de la tulpină la tulpină; în medii de cultură speciale (pH 6,8–7, la 36°C) însămînţate cu tulpini înalt toxigene, toxicitatea filtratului este maximă în 6–7 zile, atingînd 2.000.000 DL_{50}/ml. Este însă foarte labilă; prin învechire şi încălzire îşi pierde toxicitatea, nu însă şi valoarea antigenică: chiar la 0°C, filtratul de cultură pierde 75% din toxicitate în 3–4 săptămîni; la 100°C este total inactivată în 5 min.

DIAGNOSTIC

Diagnosticul tetanosului la bolnav este numai clinic, pe baza simptomelor foarte caracteristice. Diagnosticul bacteriologic este utilizat doar pentru confirmare *postmortem* a tetanosului considerat uneori iatrogen (*neonatorum*, puerperal, chirurgical). Sporii şi bacilul tetanic sînt căutaţi în produse din plaga tetanigenă (puroi, crustă, ţesut excizat), în produsul presupus contaminant (catgut, instrumente chirurgicale, ghips, talc etc.).

Examenul microscopic al produsului, ţesut, poate uneori pune în evidenţă forme caracteristice, de ,,bold'', gram-pozitiv.

Izolarea bacilului tetanic se face după metodele generale descrise pentru anaerobi, sau speciale, pentru anaerobi sporulaţi.

De exemplu, produsul patologic este însămînţat în bulion, anaerob, incubat la 37°C şi urmărit pînă la o lună de zile: prin pasaje săptămînale pe geloză-sînge cu neomicină, incubată anaerob, sau pe geloză moale, după prealabilă încălzire 30 min la 70°C a unei cantităţi din bulionul însămînţat. Tot săptămînal, cîte 1 ml bulion este inoculat în coapsa şoarecelui (cel mai sensibil animal de laborator). În cazul tulpinii toxigene, şoarecele face contracturi care încep în membrul inoculat, se generalizează (toate membrele devin rigide, ca ,,beţe de chibrituri'', mai ales la excitare, de orice fel) şi animalul moare; şoarecii martori, protejaţi cu ser antitetanic, supravieţuiesc aceleiaşi inoculări (testul de seroneutralizare).

Un diagnostic mai rapid poate fi obţinut prin inocularea directă a produsului la şoareci imunizaţi şi la martori neimunizaţi antitetanic.

ANTITOXINA TETANICĂ ŞI TRATAMENTUL

Antitoxina tetanică se prepară prin hiperimunizarea cailor cu anatoxină şi apoi cu toxină. Serul antitetanic are o înaltă valoare neutralizantă exprimată în UAI/ml sau în unităţi blocante (UB): 1 UAI reprezintă cantitatea de antitoxină capabilă să neutralizeze 100 DLM şoarece sau să blocheze echivalentul acestei cantităţi de anatoxină.

Tratamentul tetanosului este imunologic (seroterapie), antibacterian (antibiotice), simptomatic şi uneori chirurgical; toate se aplică cît mai precoce posibil:

— tratamentul chirurgical urmăreşte desfiinţarea condiţiilor de anaerobioză din plagă şi astfel a eliberării de noi cantităţi de toxină, prin îndepărtarea ţesuturilor necrozate, a crustelor, spălare cu antiseptice oxidante (apă oxigenată, permanganat de potasiu 1/4 000);

— serul antitetanic este administrat după prealabilul control al sensibilizării şi, eventual, desensibilizare la ser de cal. Antitoxina neutralizează toxina liberă fără a avea capacitatea de a disocia toxina deja fixată pe ţesut;

— vaccinarea; tetanosul nefiind o boală imunizantă, în timpul tratamentului se face şi vaccinarea antitetanică (0,5 ml anatoxină repetată din 4 în 4 zile pînă la vindecare).

Diagnosticul tetanosului este însă un diagnostic tardiv (bazat pe apariţia contracturilor, deci după fixarea unei cantităţi de toxină); de aceea, cu toată înalta valoare neutralizantă a serului, seroterapia nu a reuşit să reducă prea mult letalitatea (50% în tetanosul nou-născutului, în jur de 30% în tetanosul adultului, 70—80% la bătrîni)*.

ANATOXINA, VACCINAREA, PROFILAXIA

Anatoxina tetanică obţinută de *Ramon* prin acţiunea simultană asupra toxinei a formolului (0,4%), a căldurii (40°C) şi a timpului (aproximativ o lună), este un produs total detoxifiat şi puternic imunizant. Infiolată, în condiţii obişnuite de conservare la +4C°, se păstrează indefinit. Se utilizează o anatoxină tetanică purificată şi adsorbită pe fosfat de aluminiu, ca adjuvant (ATPA)**.

Vaccinarea se face în prezent la toţi copii, se recomandă rapeluri la fiecare 10 ani; avînd în vedere posibilităţile numeroase de contaminare endo- (din intestin) şi exogenă (din mediu extern), indicele ideal este de vaccinare 100% pentru o bună protecţie a populaţiei. Eficienţa vaccinării se apreciază prin titrarea antitoxinei în ser (prin test de seroneutralizare pe şoarece): 0,01 UAI/ml de ser este considerată limita inferioară pentru asigurarea protecţiei; prin vaccinare corectă se ating în medie 2—4 UAI/ml şi chiar 10 UAI/ml.

Serovaccinoprofilaxia este obligatorie la toate persoanele care nu au fost prinse în programul actual de vaccinare şi prezintă plăgi „tetanigene": traumatisme abdominale, perforaţii intestinale, avorturi septice, arsuri etc., ca şi înainte de intervenţii chirurgicale pe colon. Doza preventivă de ser (care va asigura o imunitate de 2—3 săptămîni) este de 3 000—20 000 UAI s. c., sau i. m., în raport de mărimea plăgii; concomitent se începe vaccinarea cu anatoxină.

---

* Date noi indică injectarea serului intrarahidian pentru a ajunge cît mai repede la sistemul nervos (Santé du Monde, OMS, Ianuarie 1979, p. 24).

** *Constantin Levaditi* (cercetător român) şi colab. au arătat că gelul de fosfat de calciu potenţează imunizarea prin anatoxine (capacitate imunizantă care scade odată cu marea purificare a acestora).

3. CLOSTRIDIILE GANGRENEI GAZOASE. CL. PERFRINGENS

S-a văzut că bolile date de clostridiile toxigene sînt eficient controlate prin măsuri de profilaxie specifică, în cazul tetanosului, nespecifică în cazul botulismului. Mai frecvent pun azi probleme de patologie clostridiile virulente capabile să elibereze exoenzime foarte agresive (cap. XII), capabile de *hemoliză*, *necroze extinse a țesutelor moi*, *producere de gaz* (CO_2, H_2 etc., care dislocă țesut muscular și conectiv — miozită anaerobă — contribuind la distrugere tisulară locală și extinderea procesului), *produși de catabolism toxici generali** (care determină numeroase tulburări sistemice, delir toxic, pînă la șoc, cu letalitate mare, 50%). Astfel de specii (tabel 70), cel mai adesea în asociații (infecții mixte), dau procesul grav numit gangrenă gazoasă (gg) ; cel mai frecvent implicat este *Cl. perfringens*.

CONTAMINARE

Sursele de spori sînt reprezentate de sol, praf și de conținutul colonului, care pot murdări deseori răni. Se apreciază că 30% din rănile de război sînt astfel contaminate și că 5% creează condiții anaerobe de evoluție pentru gg. Numărul speciilor puse în evidență în răni rivalizează cu acela al speciilor existente (tabel 70), dar cele mai frecvente (în ordinea frecvenței) sînt : *Cl. perfringens*, 40—80% ; *Cl. novyi*, 30—50% ; *Cl. septicum*, 4—25% ; *Cl. histolyticum*, 6% ; alte specii sînt mai rar contaminante (speciile aerobe care contaminează concomitent, favorizează apariția gg, consumînd oxigenul liber existent în plagă).

POARTA DE INTRARE

Punctul de plecare este o plagă, care creează condiții de germinare a sporilor și înmulțirea bacteriilor cu eliberare de exoenzime. Poate fi o plagă traumatică (de război și tot mai frecventele plăgi prin accidente rutiere), chirurgicală (mai ales pe colon, intestin și în sfera genitală), plaga uterină (*postabortum*, *postpartum*, instrumentații — forceps, chiuretaje) ; mai rar demonstrate ca porți de intrare sînt ulcerații ale mucoasei intestinale, originea unor *enterite necrozante* date mai ales de *Cl. perfringens*, *apendicite acute* (adesea perforate urmate de peritonite, frecvent mortale), ca și *angine gangrenoase*, *stomatite ulceroase*.

PATOGENEZĂ. INFECȚII

(i) *Gangrena gazoasă* (edemul malign hemoragic) este o infecție necrozantă, cel mai adesea mixtă. Condițiile anaerobe necesare germinării, înmulțirii și eliberării de agresine sînt aceleași ca și pentru plaga tetanigenă.

---

* *Acizi* acetic, butiric, propionic, izobutiric, izovaleric, izocaproic ; *alcooli* etilic, propil, butil, butanol, izobutil, izoamil.

Diferența constă în virulența deosebită a acestor specii și eliberarea de agresine puternice care realizează necroza locală cu gaz. Incubația și severitatea procesului depind de tipul de plagă și de speciile asociate (dotarea lor cu enzime histolitice), mergînd de la celulite anaerobe la reala gg cu miozite; incubația poate dura cîteva ore, 4—6—72; evoluția bolii este de 1—2 zile; (cele mai constante simptome sînt durere intensă și subită în plagă, consecință a distensiei și histolizei, crepitațiile, serozitatea sero-sanguinolentă cu miros agresiv, febră).

(ii) *Febra puerperală*, dată în majoritatea cazurilor de *Cl. perfringens*, specie invadantă (bacteriemică), este cea mai frecventă din infecțiile cu clostridii, condiționată de regularitatea cu care se constituie plaga uterină (nașteri, mai ales forceps, avort criminal, chiuretaje, rupturi de perineu), de vecinătatea plăgii cu colonul (habitatul natural al acestei specii). Simptomele sînt aceleași, consecință a capacității histo-citolitice a exoenzimelor; hemoliza masivă intra-venoasă duce la icterul bronzat etc.

Alte posibilități sînt abcese apendiculare, biliare.

(iii) *Localizări la distanță* posibile ca pentru orice piogen prezent în intestin, sînt inițiate de sporul mobilizat de fagocite, sau de bacilul capsulat *(Cl. perfringens)* rezistent la fagocitoză; condiții favorizante oferă bolnavi cu apărare antiinfecțioasă deteriorată (neoplazii, metastaze, leucemii). Localizările la distanță sînt cel mai adeseori monobacteriene, celulite anaerobe, abcese (cerebral, pulmonar).

STRUCTURA ANTIGENICĂ ȘI FACTORII DE PATOGENITATE

Cl. perfringens (descoperit de *Achalme*) este specia cea mai virulentă, ca atare cea mai frecventă în gg și febra puerperală și invadantă. Eliberează numeroase exoenzime; în raport cu numărul, cantitatea și agresivitatea exoenzimelor au fost diferențiate 6 tipuri: A, B, C, D, E, F. Cel mai periculos este tipul A, producător de mari cantități de lecitinază și rezistent la fagocitoză (dotat cu capsulă).

Capsula polizaharidică asigură supraviețuirea inițială a bacteriilor și contribuie la invazivitate prin rezistența la fagocitoză.

Exoenzime:

lecitinaza (numită și „α-toxină"), dependentă de calciu, hidrolizează lecitina din orice membrane celulare determinînd hemoliză, leucoliză, necroze tisulare variate, procese intensificate și prin inactivarea sistemelor enzimatice care au loc cu participare de lecitină; astfel, capilarele devin mai permeabile, plasma extravazează, crește presiunea în mușchi, se intensifică anoxia, favorizînd și generalizarea infecției; catalizează hidroliza cefalinei și sfingomielinei; toate duc la efectul letal;

colagenaza („k-toxina"), enzimă proteolitică, atacă colagenul, deschizînd barierele pentru generalizarea infecției; distruge reticulul din jurul capilarelor și dintre miofibrile, dezintegrează mușchii și expune fibrilele și altor enzime proteolitice și lecitinazei;

hemolizine diferite antigenic (toxinele ε și δ), totodată necrozante și cardiotoxice (fără a hidroliza lecitina), oxigen-labile (ca și hemolizinele O, streptococică și tetanolizina), cu care dă reacții încrucișate;

proteinaza (toxina λ), fibrinolitică;

enzime necrozante și letale diferite („toxinele β, ε, i, γ, r");

hialuronidaza („μ-toxina") hidrolizează acidul hialuronic din substanța de cimentare intracelulară și favorizează difuzarea infecției;

neuraminidaza (fluidifică mucusul prin disocierea acidului N-acetil neuraminic, eliberînd acid sialic) etc.

Celelalte specii ale gg sînt mai puțin invadante deoarece nu sînt protejate de capsulă împotriva fagocitelor, dar sînt dotate cu multe exoenzime:

Cl. novyi, cu 4 tipuri antigenice (A, B, C, D), produc de asemenea lecitinaze, au acțiune hemolitică, necrozantă, letală: A (toxine α, γ, δ, ε), B (α, β, z, ε), C(γ);

Cl. septicum (descoperit de *L. Pasteur*), un singur tip antigenic, produce „L-toxina", complexă, cu aceleași proprietăți; litică, necrotică, letală (icter bronzat), ca și hialuronidază, dezoxiribonuclează;

Cl. histolyticum produce exoenzime puternic necrozante (*colagenază*, lecitinaze, *proteinază*, hemolizine) încît, letalitatea proceselor gangrenoase în care intervine această bacterie atinge 100%.

IMUNITATE

Exoenzimele elaborate de diferitele clostridii sînt *imunologic specifice*, activitatea lor fiind neutralizată (ca și a exotoxinelor propriu-zise) de serul imun omolog. Serul antigangrenos este un ser polivalent, care conține Ig specifice față de principalele exoenzime și totodată antibacterian, antipolizaharid capsular (*Cl. perfringens*).

DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIC ȘI ANTIBIOGRAMA

Diagnosticul gangrenei gazoase a plăgilor externe este clinic; precizarea etiologiei este bacteriologică, cu atît mai mult cu cît, orice astfel de proces, inclusiv febra puerperală, poate fi dat și de anaerobi nesporulați gram-pozitiv sau/și gram-negativ* (v. tabelul 68).

Hemoculturile se practică înainte de începerea terapiei de urgență cu A.

Din secreții și serozități se fac frotiuri (pe lame bine flambate) și însămînțări în suprafață (semicantitative pentru produsele supracontaminate).

Rapiditatea evoluției și prognosticul foarte grav al infecțiilor cu clostridii, impun, pînă la izolarea și identificarea precisă a speciei (-iilor), furnizare de date prezumtive pe bază de:

(i) examen microscopic în frotiu de produs patologic; este indiciu de infecție cu *Clostridium*, prezența de bacili mari, groși, gram-pozitiv, izolați, în perechi sau scurte lanțuri, prezența sporilor** subterminali-terminali, prezența capsulei pentru *Cl. perfringens* (indiciu foarte important, fig. 116 C); identificarea cu seruri imune monospecifice fluorescente în frotiu este posibilă și indicată pentru *Cl. perfringens* care dă cele mai multe din infecțiile cu *Clostridium*;

(ii) examenul precoce (3—6 ore) al culturilor prin frotiu colorat Gram și prin imunofluorescență;

(iii) antibiograma pe cultură primară (ACP), recomandată „fără rușine" de *Stokes* („Clinical bacteriology", 1968, p. 74);

---

* Modul de recoltare și însămînțare, la p. 487—488.

** *Cl. perfringens* prezintă rareori spori în produs patologic.

(iv) antibiograma pe culturi purificate.

Valoarea acestor teste depinde numai de seriozitatea cu care sînt respectate normele de recoltare, p. 488 : (1) evitarea contaminării cu flora normală a mucoaselor-tegumentelor, (2) protecția produsului recoltat de contactul cu aerul, (3) însămînțarea imediat după recoltare, în suprafață, prin metoda dispersării semicantitative, pentru orice produs supracontaminat, (4) însămînțare în suprafață, omogenă, pentru ACP, (5) incubare imediat după însămînțare.

Cl. perfringens, crește mai repede, în 4—6 ore pe geloză-sînge, în 3—4 ore în medii lichide; dă colonii mari, 2—6 mm Ø, rotunde, S-M, foarte hemolitice. Este imobil, capsulat.

Identificarea se face prin teste biochimice (tabel 71) prin teste de seroneutralizare *in vivo* (greoaie) și *in vitro* (neutralizarea activității lecitinazelor) și prin teste de aglutinare cu seruri monospecifice (pentru *Cl. perfringens*, seruri de tip A, B, C, D, E).

Pentru produse recoltate din plagă, inocularea directă intramuscular în coapsa cobaiului, cu obținerea procesului gangrenos, este o metodă destul de rapidă de confirmare a prezenței speciilor *Clostridium*, în general.

PROFILAXIA GANGRENEI GAZOASE, SERUL ANTIGANGRENOS

Chiar în cazuri corect și precoce tratate, letalitatea prin infecții cu clostridiile virulente este foarte mare (50%) ; de aceea se pune mare bază pe profilaxia infecției prin actul chirurgical, toaleta plăgii (ca în tetanos), și pe seroprofilaxia cu ser antigangrenos polivalent mixt (antiagresinic și antipolizaharid capsular *perfringens*), purificat și concentrat.

Toate exoenzimele sînt proteine antigenice și imunizante; serurile specifice sînt neutralizante. Serurile monovalente se prepară prin imunizarea cailor cu anatoxine (filtrate de culturi, exoenzime brute, formolate $3^{0}/_{00}$ și ținute 4—6 zile la 37°C) și apoi cu exoenzime neformolate. Se fac apoi amestecuri, în care, în cantitatea cea mai mare, este inclus serul anti*perfringens*. Un bun ser antigangrenos conține imunoglobuline față de toate agresinele elaborate de clostridii.

Seroprofilaxia antigangrenoasă se administrează la orice rănit și mai ales în cazul plăgilor murdărite cu pămînt, praf, în care a ajuns conținut intestinal, plăgi chirurgicale care traversează mucoase foarte contaminate (tractus digestiv, genital) etc. Datorită indicațiilor identice, serul antigangrenos se administrează concomitent cu serul antitetanic, i. m., după controlul stării de sensibilizare la serul de cal.

TERAPIE

În orice suspiciune clinică de gg, sau bacteriologică, tratamentul este de urgență și constă în administrarea de:

— ser antigangrenos polivalent, local și i. m. ; în septicemiile date de *Cl. perfringens* se recomandă ser anti*perfringens*, antitoxic și antibacterian (anticapsular) ;

— penicilina (antibioticul cel mai puțin toxic și foarte activ), i. v. ; se înlocuiește la necesitate cu alt A, după rezultatul antibiogramelor ; A. ajung greu în focarul necrotic ;

— oxigen-hiperbar-terapia ar inhiba atît germinarea sporilor cît și înmulțirea bacteriei ; dă rezultate bune în infecțiile pur anaerobe și, așa zis, ,,paradoxale'', în infecțiile gangrenoase date de facultativ-anaerobi ;

— tratamentul chirurgical are aceeași intenție, eliminarea condițiilor de înmulțire a anaerobilor, crearea condițiilor de acces pentru antibiotice și serul antitoxic (constă în eliminarea țesuturilor cu vitalitate compromisă, drenare cu desființarea pungilor închise cu secreții și hematoame, spălare abundentă cu antiseptice oxidante). Debridarea mutilantă și amputațiile favorizează adsorbția de exoenzime și difuzarea infecției, de aceea sînt contraindicate.

BIBLIOGRAFIE

1. BABEȘ V. : Sur la vaccination des toxines latents contre-balancées par des antitoxine sanguines. 1895 (Babeș V. : Opere alese, vol. 1, 1954).
2. BAROIS A., GAJDOS PH., GOULON M. : La gangrène gazeuse. Etiologie et prévention. *G. M. de France*, *81*, 11, 1 375—1 383, 1974.
3. BASTIN PR. R. : Tétanos et guerre de 1939—1945. *Concours Méd.*, 27/12, 97—46, 1975.
4. BITTNER J., VOINESCU V. : Acțiunea antibioticelor asupra gangrenei gazoase. *Microbiol. Parazitol. Epidemiol.*, *XI*, 5, 391—397, 1966.
5. BITTNER J., MUNTEANU V. : On relations between spore-thermoresistance, toxigenesis and pathogenicity in *Clostridium perfringens*. În *Actual data on the biology and pathology of anaerobic bacteria*. Simp. Inst. ,,I. C. Cantacuzino'' și Inst. ,,Pasteur'' 24—25 iulie 1975. București.
6. BÎRZU A. și colab. : Actulitatea botulismului. Rev. *Igiena*, București, 9, p. 565, 1968.
7. BLAKE P. A. et all. : Serologic therapy of tetanus in the United States 1965—1971. *JAMA*, *235*, 1, p. 42, 1976.
8. CONDREA P. : Contributions à l'étude des variété *smooth* et *rough* du bacille tétanique. *C. R. S. Biol.*, *c VII*, 188—190, 1931.
9. CONDREA P., DUCA E., PETROVICI AL. : Contribuții la studiul asupra relațiilor dintre morfologia bacteriană și forma coloniilor. *Bul. Ses. St.* IMF Iași, 4—8 iunie 1954, 1955.
10. COURTIEU A. L., DRUGEON H., ESPAZE E. : Sensibilité aux antibiotiques des bactéries anaérobies. *G. M. de France*, *81*, 11, 1 351—1 359, 1974.
11. EISENBERG M. S., BENDER T. R. : Botulism in Alaska, 1947 trough 1974. *JAMA*, *235*, 1, p. 35, 1976.
12. FINEGOLD S. M., SUGIHARA P. T., SUTTER V. I. : Use of selective media for isolation of anaerobes from humans. *Isolation of anaerobes*. Shapton D. A., Board B. G. (Eds) Accad. Press, London—NY, 1971.

13. FOLIGUET P. : Le tétanos. Vaccination. (Table ronde). *J. Méd. de Strassbourg,* 4, 325–333, 1970.

14. GORBACH S. L., BARTLETT J. C. : Anaerobic infections. *N. Engl. J. Med., 290,* nr. 21 22, 23, 1974.

15. GROSBUIS S., GOULON M. : La prévention du tétanos. *G. M. de France, 81,* 11, 1 391–1 398, 1974.

16. HARIHARAN H., MITCHELL W. R. : Observations on bacteriophages of *Cl. botulinum* type C isolates from different sources and the role of certain phages in toxigenicity. *Appl, Microbiol., 32,* 1, 145–171, 1976.

17. HERZOG F., GALFFE M., BADILLET M. : Gamma-globulines antitétaniques humaines *Presse Méd., 77,* 6, 207–208, 1969.

18. LARCAN A., LAPREVOTE-HEULLY M. C., LAMBERT H. : La gangrène gazeuse, Aspects étiologiques, cliniques et thérapeutiques d'actualité. *Nouv. Presse Méd., 3,* 38/40, 2 493–2 496, 1974.

19. MAYHEW W. J., GORBACH S. L. : Rapid gaz chromatography. Technique for presumptive detection of *Cl. botulinum* in contaminated food. *Appl. Microbiol., 29,* 2, p. 297, 1975.

20. NAKAMURA S., SHINAMURA T., NISHDA S. : Taxonomy of pathogenic *Clostridia.* În *Actual data on the biology and pathology of anaerobic bacteria.* Simp. Inst. ,,I. C. Cantacuzino'' şi Inst. ,,Pasteur'', 24–25 iulie 1975. Bucureşti.

21. RAMON G. : La vaccination par l'anatoxine tétanique. *Rev. d'Immunol., 26,* 4, 234–262, 1962.

22. REY M., DIOPMAR I. : Vaccination antitétanique. Din ,,*Seminaire sur les vaccinations en Afrique*''. Kampala 7, 8, 9, 10 Décembre 1971.

23. ROMAN V., MOROIANU-BIBERI S. : Evaluation and results of programme of tetanus elmination in Romania. În *Actual data on the biology and pathology of anaerobic bacteria* Simp. Inst. ,,I. C. Cantacuzino'' şi Inst. ,,Pasteur'', 24–25 iulie, 1975.

24. SCHOFIELD F. D. : La vaccination maternelle contre le tétanos néonatal. Application des connaissances actuelles sur le terrain. Din ,,*Seminaire sur les vaccinations en Afrique*'' Kampala 7, 8, 9, 10 Décembre 1971.

25. SEBALD M., JOUGLARD J., GILLES G. : Botulisme humain de type B après ingestion de fromage. *Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur), 125 A,* 3, p. 349, 1974.

26. SMITH J. W. G., LAURENCE D. R., EVANS D. G. : Prevention of tetanus in the wounded. *Brit. Med. J.,* 3, p. 453, 1975.

27. STANFIELD J. P., GALL D., BRACKEN P. M. : La vaccination antitétanique prénatale par une dose unique. Din ,,*Seminaire sur les vaccinations en Afrique*'', Kampala 7, 8, 9, 10 Décembre 1971.

28. STARK R. L., LUNCAN C. L. : Purification and biochemical properties of *Cl. perfringens* A enterotoxin. *Infection and Immunity, 6,* 5, 662–673, 1972.

29. SUDRE Y., BECQ-GIRAUDON B., BAUTAUD PH. : Le botulisme. Conduite thérapeutique à propos de 36 cas. *Sem. Hop. Paris, 51,* 12, 807–810, 1975.

30. TRIAN R. : La prévention passive moderne du tétanos. *J. Méd. de Strassbourg,* 4, 333–338. 1970.

31. VORONESI R., CORREIA A., FERREIRA H., COSTA C., FOCACCIA E., BAZONE I. R. C., TAVERES J. : Naturally acquired tetanus immunity : further evidence in humans and animals. In *Actual data on the biology and pathology of anaerobic bacteria.* Simp. Inst. ,,I. C. Cantacuzino'' şi Inst. ,,Pasteur'', 24–25 iulie 1975. Buc.

32. YANG K. H., SUGIYAMA H. : Purification and properties of *Cl. botulinum* type F toxin *Appl. Microbiol.*, *29*, 5, 598—634, 1975.

33. * * *: *Isolation of anaerobes*. Shapton D. A., Board R. G. (Eds) The Society for applied bacteriology, Technical series, nr. 5, Acad. Press, London—NY, 1971.

34. * * *: Le tétanos en Belgique. *Chronique OMS*, *25*, 3, 1971.

35. * * *: Tétanos. O. M. S. *Relevé Epidém. hebd. OMS*, nr. 24, p. 227, 1975; nr. 32, p. 254, 1976.

36. * * *: Outbreak of botulism. O. M. S. *Relevé Epidém. hebd. OMS*, nr. 44, p. 342, nr. 51, p. 341, 1976.

37. * * *: Directives pour la prévention du tétanos. *Chronique OMS*, 30, 218—220, 1976.

XXXI. BACILI GRAM POZITIV NESPOROGENI

GENURILE LISTERIA, ERYSIPELOTHRIX, CORYNEBACTERIUM

A. GENUL LISTERIA *

> „...... a se practica sistematic hemoculturi la orice femeie gravidă febrilă .... examenul bacteriologic direct al meconiului (prezenţă de bastonaşe gram-pozitiv) trebuie să fie practicat ca metodă de rutină".
> (*Chaiers de santé publique*, *42*, p. 32, OMS, 1971.)

Genul **Listeria** cuprinde bacili gram-pozitiv, mobili, nesporulaţi, necapsulaţi, facultativ anaerobi; specia tip şi singura de interes medical este *L. monocytogenes*, infectantă pentru numeroase specii animale şi pentru om.

LISTERIA MONOCYTOGENES

Listeria monocytogenes a fost izolată prima dată de *Murray*, *Webb* şi *Swann*, în 1926, de la iepuri cu poliadenită şi monocitoză; după 5 ani, a fost pusă în evidenţă şi în infecţie la om. Este un bacil care în frotiu mimează difteroizi sau diplococi gram-pozitiv; coloniile pe geloză-sînge se confundă cu cele de streptococi beta-hemolitici; antigenic, seamănă cu bacilii gram-negativ; ca şi aceste specii, posedă lipid de perete şi este facultativ intracelular; ca şi faţă de alte b. f. i., imunitatea este mediată de celule, iar leziunile sînt infiltraţii monocitare cu necroze.

MORFOLOGIE

Cocobacili de 0,5—2/0,4—0,5 μm, singuri, sau cîte doi, paraleli sau în V, Y; (în culturi vechi *rough*-izate apar şi filamente, pînă la 50—100 μm); în culturi incubate la 20—25°C sînt mobili, au 4—5 cili peritrichi (fig. 119).

---

* Gen cu afiliere incertă; descris în *Bergey's manual*, 1974, în *Partea 16* alături de familia *Lactobacillaceae* cu genul *Lactobacillus*. *Lactobacillus* conţine numeroase specii zaharolitice, saprofite, prezente mai ales în produse lactate fermentate; unele din aceste specii, ca *L. acidophilus* (bacilul lui Döderlein, fig. 120) reprezintă o importantă componentă a florei normale a intestinului, a vaginului, a mucoasei bucale şi a tegumentelor; aceste specii joacă un deosebit rol în menţinerea echilibrului normal ecologic pe mucoase şi în intestin.

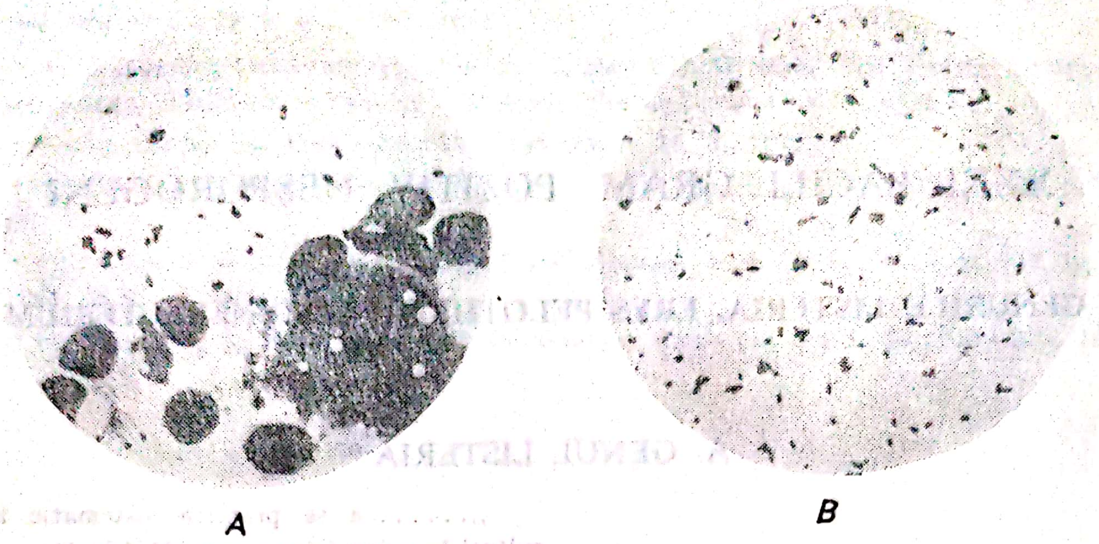


Fig. 119 : *Listeria* :
A. frotiu din nodul necrotic din ficat de şoarece; B. frotiu din cultură în bulion de 16 ore (× 1000). Reprodus din *J. Dumas*, „Bact. Méd." (*mise à jour*, 1970).

CULTIVARE

La izolarea din organism (l. c. r., sînge, lohii, exsudat din endocol, placentă, meconiu etc.), *L. monocytogenes* cultivă mai greu; uneori, pentru izolare este necesară „îmbogăţirea la rece", păstrarea produsului patologic ca atare, sau însămînţat în bulion triptoză, la + 4°C, timp de 4 săptămîni, cu subcultivare din 4 în 4 zile pe geloză-sînge şi incubare la 37°C în atmosferă cu 10% CO_2. După izolare, creşte uşor mai ales pe medii compuse, la 37°C, (cultivă şi la temperaturi mult mai scăzute, 2,5° la 25°C). Pe geloză-sînge, coloniile, mici, se înconjură de o zonă de beta-hemoliză; mărimea zonei variază cu serotipul şi cu sursa de globule roşii, oaie etc.

CARACTERE BIOCHIMICE

Produce catalază, fermentează glucoza, hidrolizează esculina.

ANTIGENE DE SPECIFICITATE

L. monocytogenes posedă:
— antigen „O", care dă reacţii încrucişate cu alte specii; rezistent la căldură; din care pot fi extrase un lipid, hexoze şi hexozamine, şi
— antigene „H", cu structuri diferite, care împart specia în 7 serotipuri (1—7) şi diferenţiază fiecare serotip în subtipuri (a, b, . . .).

FACTORI DE PATOGENITATE

L. monocytogenes este o specie netoxigenă, cu virulenţă redusă dar sensibilizantă, facultativ intracelulară. Nu se cunosc factorii de virulenţă, în afară de o hemolizină. Responsabil de fenomenele de sensibilizare caracteristice speciei (infiltratul monocitar), ar fi lipidul care injectat i. v. la iepure produce monocitoză.

Infecția, datorită virulenței reduse a speciei, este de cele mai multe ori inaparentă, iar manifestarea clinică are evoluție lentă, apariția bolii fiind condiționată de deficiențe în apărarea antiinfecțioasă; de aceea, listerioza clinică este mai ales o boală a fătului și nou-născutului, a bătrînilor, a gravidei și apare la alți bolnavi cu mari deficiențe în apărare.

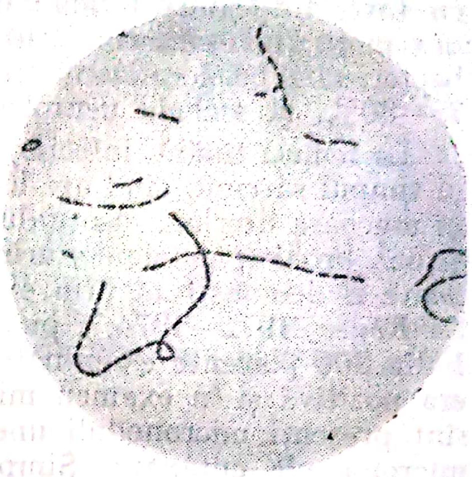


Fig. 120: ***Bacillus Döderlein***, **frotiu din cultură** (*Topley*, **1955**).

Manifestările de sensibilizare sînt consecință a evoluției lente a infecției, care duce la constituirea granulomului monocitar, tip întîrziat, caracteristic și altor bacterii facultativ intracelulare (b. f. i.); *L. monocytogenes* a fost mult folosită în experimente pentru a demonstra capacitatea sensibilizantă a b. f. i.

HABITAT

L. monocytogenes este foarte răspîndită în natură, prezentă în colon la multe specii animale cu sînge cald, inclusiv păsări, animale cu sînge rece, insecte; ajunge astfel frecvent în mediul extern, în apă, sol, aliment.

CONTAMINAREA

Omul are multe posibilități de contaminare cu această specie: pe cale digestivă prin alimente și apă, pe calea aerului, genitală, plăgi; fătul se poate contamina *in utero* (transplacentar, sau prin contact direct cu mucoasa uterină infectată) și la naștere, prin contact cu mucoasa vaginală contaminată, a mamei sănătoase. La nou-născutul contaminat, *Listeria* este prezentă în meconiu (vezi moto).

LISTERIOZA

Numeroase specii animale fac listerioză aparentă și inaparentă; poarta de intrare ar fi orofaringiană; manifestările sînt septicemice cu monocitoză și localizări meningeale, lăsînd sechele encefalitice, avort, bronhopneumonii etc.

La om cea mai frecventă este infecția inaparentă. Infecțiile clinice apar cel mai adesea la făt și nou-născut, ele reprezintă 1/3 din toate cazurile de listerioză clinică; fătul infectat *in utero*, transplacentar, face septicemia granulomatoasă, cu localizări miliare în toate organele și în special în ficat, cu *rash*, totdeauna fatală; deseori fătul este născut înainte de termen, sau mort; nou-născutul infectat în timpul delivrării, mai rezistent, face bacteriemie cu localizare meningeală cel mai frecvent, cu letalitate de 75—80%, și sechele neurologice la mulți „vindecați”, de infecție.

La femeia tînără, infecția, este cel mai adesea inaparentă, devine clinică în timpul sarcinii, cînd are loc o suprainmulțire considerabilă a bacteriilor în mucoasa uterină, însoțindu-se de febră, rar sindrom septicemic, pseudogripal, bronhopneumonic, urinar, adeseori numai astenie. Prezența infecției poate fi demonstrată prin examene microbiologice sistematice (v. moto): *La Rouen*, 1972—1974, a pus în evidență rezultate pozitive la aproximativ 1 din 300 placente examinate; în toate cazurile, proba pozitivă în culturi era pozitivă și în examen microscopic direct. Pe fața uterină a placentei sînt prezenți micronoduli uneori necrotici; la nou-născut pot fi prezente micropustule cutanate. Simptomele la femeie dispar *postpartum*.

Infecția apare și la adultul cu IMC compromisă (boala Hodgkin, limfoame, ciroze, terapie cu cortico-steroizi). Cea mai frecventă localizare este pe meninge, *locus minime resistentiae*, 75% din toate listeriozele fiind meningite. Alte localizări la nivelul seroaselor, bogate în macrofage, sînt posibile, peritonită, poliserozită, ca și osteomielite, endocardite, infecții cutanate. În jurul macrofagelor incapabile să digere b. f. i. (în organism neimunizat), se formează infiltrate monocitare cu degenerare necrotică, *noduli listerieni*. Boala este imunizantă.

DIAGNOSTICUL ETIOLOGIC

Diagnosticul listeriozei este bacteriologic; serodiagnosticul este mai puțin verificat.

La fătul mort, bacteria poate fi pusă în evidență în cupe histologice prin colorație Gram și prin imunfluorescență (fig. 119).

La nou-născutul infectat, *Listeria* este prezentă în număr mare în meconiu (v. moto); în frotiul de meconiu de la nou-născut sănătos nu se văd bacterii.

La gravidă, diagnosticul se pune prin hemoculturi repetate, în medii bogate, cu incubare în atmosferă cu CO_2.

În meningite, *Listeria* poate fi evidențiată în frotiu din sediment de l. c. r., fie ca bacili mici gram-pozitiv intra- și extracelulari, fie identificată rapid cu ser imun fluorescent. Sedimentul însămînțat pe geloză-sînge incubată aerob cu 10% CO_2 permite adesea izolarea bacteriei, uneori este necesară „îmbogățirea la rece”.

Pentru izolarea listeriei din produse supracontaminate (lohii), se folosesc medii selective, cu 40 μg acid nalidixic/ml de mediu; (vezi și capitolul profilaxie).

Identificarea speciei *Listeria* se face (i) *serologic* (cu ser polivalent anti-*Listeria*), (ii) *pe baza patogenității* (inocularea pe conjunctivă la iepure, sau cobai, dă în 3—5 zile cherato-conjunctivită urmată de oftalmie; inocularea i. v., sau i. p., la iepure, dă în 3—7 zile bacteriemie cu monocitoză; inocularea i. p. la șoarece îl omoară în 1—3 zile cu focare necrotice miliare mai ales în ficat), (iii) *biochimic* și (iv) prin *testul mobilității* (însămînțare prin înțepare în geloză moale glucozată 1% ; b. mobile cresc întîi pe traiectul de însămînțare, apoi difuzează lent în toată coloana de mediu).

SENSIBILITATE (S) LA ANTIBIOTICE ȘI TERAPIE

L. monocytogenes este S *in vitro* la practic toate A în afară de Po, Su și AN (acidul nalidixic fiind folosit ca agent selectiv în medii de izolare din produse patologice supracontaminate). *In vivo*, listeriile supraviețuiesc în macrofage; există date că penicilina în doze maximale pătrunde și este bactericidă și intracelular.

PROFILAXIE

Singurele măsuri de prevenire a listeriozei, neo-natale, perinatale, a sechelelor neurologice, a avortului repetat și a localizărilor secundare, este depistarea infecției prin examenul microbiologic ante-, intra- și postnatal, urmat de terapie:

(i) Ideală este depistarea infecției la parturientă prin hemoculturi repetate (în orice stare febrilă care durează mai mult de 3—5 zile, în sindroame urinare, bronhopulmonare, pseudogripale, mai ales repetate), și prin culturi din exsudat cervical cu ocazia consultațiilor prenatale.

(ii) Examen microscopic sistematic al placentelor cu prelevarea unui fragment de circa 10 g de pe fața ei uterină, se aleg eventualii noduli; în cazuri pozitive, listeriile sînt prezente în număr foarte mare; fragmentele puse în flacoane sterile se păstrează la frigider, la + 4°C; a doua zi se fac frotiuri din lichidul exsudat, se colorează Gram și se examinează; din placente de la femei cu suferințe nediagnosticate se fac și culturi. Numeroase listerii pot fi văzute și cultivate, la delivrare și cîteva zile *postpartum*, și din secreții recoltate din vagin și mai ales endocol.

(iii) Examen microscopic sistematic al meconiului prelevat imediat după naștere la toți copii; la copii cu diferite suferințe (erupții maculare pe piele, granulații faringiene, rinite, pneumopatii) se fac și culturi.

Un examen pozitiv la mamă sau la nou-născut este urmat de terapie la ambii.

B. GENUL ERYSIPELOTHRIX

Genul *Erysipelothrix* are o singură specie, *E. rhusiopathiae*, agentul unei zooantroponoze: bacili scurți (0,5—2,5/0,2—0,4 µm), filamentoși în colonii R, uneori granulari (fig. 121), imobili, facultativ anaerobi, nu produce catalază, crește și pe medii simple; pe geloză-sînge dă colonii alfa-hemolitice. Serologic, diferă de *L. monocytogenes*; nu fermentează glucoza, nu hidrolizează esculina.

Larg răspîndit în natură, produce infecții acute la numeroase mamifere, inclusiv *Cetaceae*, păsări; caracteristic este rujetul *(rash)* sau erizipelul

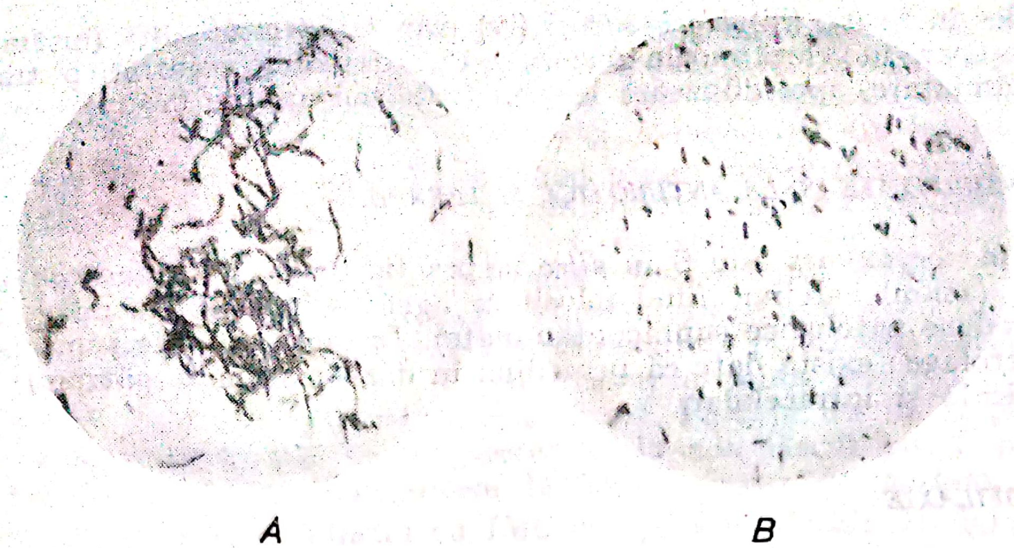


Fig. 121 : *Erysipelothrix rhusiopathiae* :
A. frotiu din colonii S; B. frotiu din colonii R.

porcului. Contaminează și infectează accidental omul, interesînd mai ales măcelari, mezelari, prin contact direct și repetat cu carne contaminată. Poarta de intrare este reprezentată de soluții de continuitate cutanate; infecția îmbracă aspectul unei dermite (numit și „erizipeloidul Baker-Rosenbach"), cu posibilități de generalizare septicemică și localizări secundare.

Patogenia este asemănătoare aceleia din listerioză.

Diagnosticul este posibil prin hemoculturi; identificare prin diferențiere de *Listeria*.

Sensibilitatea la A. este identică cu a altor bacterii gram-pozitiv.

BIBLIOGRAFIE

1. BUCHNER L. H., SCHEIERSON S. S. : *Listeria monocytogenes* infections. *Am. J. Med*, *45*, 904–921, 1968.
2. DEGEORGES M., HEINTZ CH. et all. : Endocardite infectieuse à *Listeria monocytogenes* et à *Cephalosporium*. *Presse Méd.*, *79*, 30, 1 377–1 380, 1971.
3. DEMARQUEZ J. L. et all. : Listérioses néo-natales. *Bordeaux Méd.*, *8*, 11, 1 291–1 298, 1975.
4. DREAN J. P., JOUEN F. et all. : Recherche de *L. monocytogenes* dans les placentes prélevés en salle de travail. *Nouv. Presse Méd.*, 3, 41–43, 1974.
5. HOUANG E. T. et all. : Acute *L. monocytogenes* osteomyelitis. *Infection*, *4*, 2, 113–114, 1976.
6. HUMBERT G. et all. : Aspects actuels des listérioses en France. *Lyon Méd.*, *237*, 4, 275–289, 1977.
7. MOELLERING R. C. JR. et all. : Antibiotic synergism against *L. monocytogenes*. *Antimicrob. Ag. Chemother.*, *1*, 30–34, 1972.

8. MURRAY E. G. D., WEBB R. A., IWANN M. B. P. : A disease of rabbits characterized by a large mononuclear leucocitosis, caused by a hitherto undescribed bacillus *Bacterium monocytogenes*. *J. Pathol. Bacteriol.*, *29*, 407–439, 1926.

9. ORTEL S. : Listeria excreters and their epidemiological significance. *Münch. med. Wschr.*, *117*, 27, p. 1 145, 1975.

10. PREVOT A. : Infection des cétacés par le bacille du rouget du porc. *Nouv. Presse Méd.*, *5*, 5, 276–278, 1976.

11. VIGY M. (Un entretien avec Wilde J. L.) : Les infections chez la femme enceinte ; les notions récentes et leurs conséquences pratiques. *Concours Méd.*, *98*, 45, 7 236–7 242, 1976.

12. WEIS J., SEELINGER H. P. R. : Incidence of *Listeria monocytogenes* in nature. *Appl. Microbiol.*, 30, 1, 1975.

C. GENUL CORYNEBACTERIUM *

Cuprinde un număr mare de specii, nesporulate, necapsulate, imobile, bacili drepți sau ușor încurbați, măciucați la unul sau la ambele capete (*Coryne — bacterium* = bacterie măciucată), uneori inegal calibrați, gram-pozitiv colorîndu-se adesea neuniform, apar barați sau granulari, unele granulații sînt metacromatice (Babeș-Ernst) ; b. difterici se decolorează ușor după învechirea culturilor, mai ales ; sînt facultativ anaerobi, cresc cel mai bine în aerobioză pe medii simple și îmbogățite.

Majoritatea speciilor sînt nepatogene, saprofite ale mediului extern, apă-sol, multe sînt patogene pentru plante sau animale ; două specii sînt comensale destul de frecvente pe învelișuri la om, numite generic „difteroizi", obișnuit nepatogene :

C. pseudodiphtericum prezent adesea pe mucoasa nazofaringiană ; este unul din agenții mai rari ai endocarditei bacteriene subacute ; ca și *Str. viridans*, ajunge accidental în sînge prin rupturi vasculare, putîndu-se grefa în leziuni endocardice preexistente — reumatismale, congenitale (cap. XXII B) ;

C. xerosis izolat uneori din sacul conjunctival și de pe piele, nepatogen ;

C. pseudotuberculosis este un patogen animal producînd limfadenite ulcerative la oi, capre, cal și alte specii ; la om contaminează uneori plăgi dînd inflamații cu edem, explicate prin lipidul de perete (analog „cord-factor"-ului caracteristic tulpinilor virulente de *Myc. tuberculosis*) pe care îl posedă.

Aceste specii pun probleme de diferențiere (tabel 72) de :

C. diphteriae, specie tipic toxigenă, este singura înalt patogenă** numai pentru om, agentul etiologic al difeteriei și specia tip a genului.

Datorită eficienței profilaxiei cu anatoxina difterică, poate fi bine controlată ; în țara noastră aplicarea *de masă* a vaccinării a redus considerabil morbiditatea (cap. XIV) ; numai din 1948 a scăzut de la 16,8 la 0,01/100 000 locuitori.

---

* Neîncadrat încă în grup taxonomic superior (familie) ; descris în Partea 17 „Actinomycetes and related Organisms" în *Bergey's Manual*, 1975.

** Difterie, boală epidemigenă (în populație nevaccinată) cu mortalitate mare chiar cu tratament specific.

Istoric. Etapele parcurse pentru cunoaşterea şi stăpînirea difteriei paralelizează importantele etape ale dezvoltării microbiologiei ca ştiinţă şi reprezintă etape cheie în cunoaşterea terapiei şi profilaxiei specifice antitoxice şi antiinfecţioase. Reprezintă totodată un exemplu de rezolvare ştiinţifică şi completă a unei foarte grave boli epidemice.

Descoperirea etiologiei a permis elucidarea *patogeniei*, descoperirea tratamentului etiologic — specific şi patogenetic — şi al *profilaxiei specifice*. Încît, difteria, care cu numai cîteva decenii în urmă reprezenta unul din cele mai temute flagele, care secera mai ales copii, este astăzi o boală pe cale de eradicare.

Atacul conştient al medicilor pentru cunoaşterea bolii a fost iniţiat de *Napoleon*; afectat de moartea nepotului său (fiu al Hortensei şi Louis Bonaparte, regele Olandei), a organizat în 1807 un concurs, pentru medicii din Franţa şi străinătate, cu tema: studiul ,,crupului"*.

În 1815, *Bretonneau* se consacră studiului acestei boli şi-i dă numele de *difterită* (schimbat apoi de *Trousseau* în difterie); se convinge de caracterul ei *contagios*: ,,Flagelele epidemice sînt diseminate prin germenii care le produc"; cunoaşterea clinică nu permitea şi stăpînirea bolii; difteria continua să facă ravagii. *Hübner*, medic în Budapesta, scria: ,,copiii soseau dimineaţa, erau operaţi (traumatizaţi) după masă şi mureau seara; mortalitatea globală era de 50%, cea a copiilor operaţi de 70—80%".

Rezolvarea problemei începe odată cu era microbiologică, atunci cînd clinicii i se asociază experimentul de laborator: bacilul difteric a fost văzut de *Klebs* în 1883, izolat de *Löffler* în 1884, care nu a reuşit însă reproducerea bolii experimentale; a fost derutat de prezenţa aceleiaşi bacterii pe mucoase la copii normali, şi de imposibilitatea de a o izola din toate cazurile clinice de difterie. Rolul etiologic al bacilului a fost elucidat de *Roux* şi *Yersin* (discipolii lui *Pasteur*) care descopăr *toxinogeneza bacilului difteric* (1889) şi, astfel, *patogenia bolii*: ei arată că, spre deosebire de alte bacterii, b. difteric se dezvoltă numai la poarta de intrare (reprezentată cel mai adesea de mucoasa faringiană) unde produce toxina care, absorbită în umori şi fixată pe ţesuturi, determină *intoxicaţia difterică*.

Cunoaşterea toxinei a impus cercetări pentru găsirea unui antidot, descoperit de *Behring* şi *Kitasato*, în anul 1890; ei au pus în evidenţă *antitoxina difterică* în serul animalelor vaccinate cu toxină, şi proprietăţile ei neutralizante. *Roux* şi *Nocard* prepară serul antidifteric terapeutic pe cal. Această descoperire a avut loc la 2 ani după ce *V. Babeş* enunţase *principiul imunizării pasive*, al *seroterapiei*, studiată de el în rabie, lucrări publicate în 1889 în Deutsche Medizinische Wochenschrift şi Ann. Inst. Pasteur. La congresul de la Budapesta, 1894, *Roux, Martin, Chaillou* comunicau primele rezultate obţinute în spitalele din Paris: la 300 copii trataţi, mortalitatea a scăzut de la 50% la 24%. În acelaşi an, *V. Babeş* a introdus seroterapia antidifterică în ţara noastră. Ameliorările aduse modului de preparare şi condiţiilor de administrare a serului au determinat scăderea mortalităţii pînă la 9 şi chiar 8%.

Dar, *tratamentul nu avea nici o influenţă asupra evoluţiei epidemiilor; acestea au continuat cu aceeaşi intensitate pînă la decoperirea anatoxinei difterice.*

Subliniem că promotorul experimentărilor care au dus la epocala descoperire a anatoxinei antidifterice a fost *V. Babeş*: ,,*Cu certitudine, Babeş în 1895, Smith în 1909, au reuşit să imunizeze cobaiul cu mici doze de toxină iodată. După tehnici analoage în institute unde se prepara ser antidifteric* ..." (*Gastinel, Fasquelle, Barbier*: *Eléments d'immunologie générale*, 1955, p. 26). Mai mult, vaccinoprofilaxia de masă a copiilor se practica încă din 1913 în Germania şi USA printr-o metodă imaginată, experimentată şi publicată prima dată tot de *V. Babeş* în 1895, amestecul toxină-antitoxină (TAT)*, atribuit cel mai adesea altor cercetători care de fapt reiau doar metoda: în America lui *T. Smith*, 1907—9 şi *W. Park*, 1915; în Germania lui *Behring* care o reactualizează în 1913*.

---

* Asfixie prin falsele membrane difterice.

Imunogenitatea metodei de vaccinare cu TAT a putut fi demonstrată prin neutralizarea toxinei injectată intradermic la copii imunizaţi posesori de antitoxină; test descoperit în 1913 de *Schick*, folosit şi azi.

Metoda a fost înlocuită, în 1924, cu *anatoxina* descoperită de *Ramon*, cînd începe marea campanie internaţională a vaccinării antidifterice; rezultatul a fost spectaculos: o reducere a morbidităţii generale prin difterie de la 30/100 000 locuitori, în val epidemic, la 0,01/100 000 şi uneori mai puţin (în ţara noastră).

Eradicarea difteriei ca boală nu înseamnă însă şi eradicarea bacterie-toxigene; în cazul bacteriilor toxigene, vaccinarea populaţiei, nu influenţează procentele de purtători.

În concluzie, noile generaţii de medici au o singură dar foarte importantă sarcină privind difteria: menţinerea succesului obţinut prin realizarea anuală, cu rigurozitate, a procentului maximal (100%) al vaccinării antidifterice a noilor susceptibili. Un caz de difterie reprezintă o fisură din acest punct de vedere.

CORYNEBACTERIUM DIPHTHERIAE

HABITAT

B. difteric este comensal exclusiv a mucoasei rinofaringiene mai ales la copii purtători sănătoşi; la bolnav se dezvoltă uneori şi în plăgi; procentele de purtători sănătoşi variază, de la 2—3%, la 20—30% în colectivităţi.

MORFOLOGIA ŞI COLORABILITATEA

Corespunde genului, aspecte diferenţiale în tabelul 72 (fig. 122).

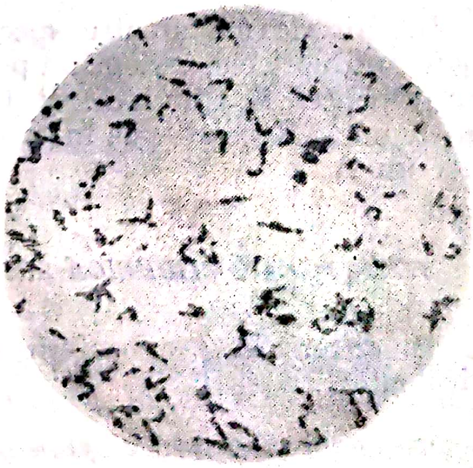


Fig. 122: *Corynebacterium diphteriae*, frotiu din cultură pe mediul Löffler (*Topley*, 1955).

CULTIVARE

Cultivă în 9—18 ore, pe medii simple, pe ser coagulat, ser coagulat glucozat, geloză-sînge, în incubare aerobă; dă colonii

---

* V. Babeş, 1895: „*Sur la vaccination avec des toxines latents contrabalancées par des antitoxine sanguines*", Opere alese, V. Babeş, vol. I, 1954.

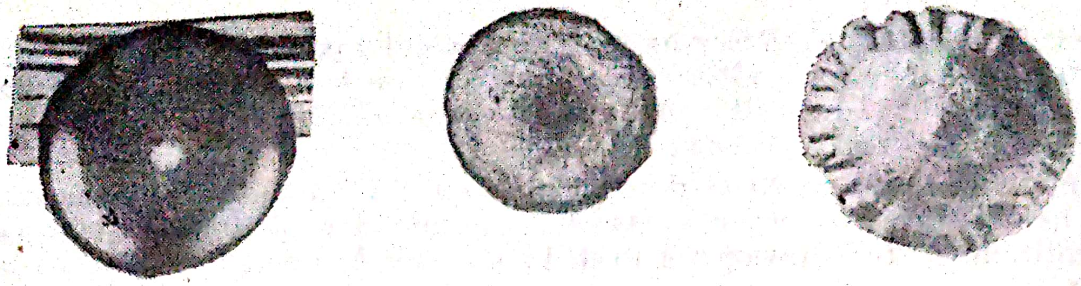


Fig. 123 : *Corynebacterium diphteriae*, cele trei tipuri de colonii (din *J. Dumas* „Bact. Méd.", mise à jour, 1970).

de 1—3 mm Ø, opace, alb-cenușii, ca picături de spermanțet. Pentru izolarea din exsudate (de la purtători sau bolnavi) se folosesc medii îmbogățite (cu ou, cistină, ser) și diferențiale, cu telurit de K (0,04%), pe care coloniile apar cenușiu închis-negru. Coloniile pot fi S (numite *mitis*), mici, convexe, rotunde, netede, lucioase; R (numite *gravis*), mari turtite, margini dințate, suprafață striată radiar (rozetă, margaretă); sau forme intermediare *(intermedius)*, fig. 123.

Aceste aspecte corespund unor variații a structurilor superficiale de perete.

REZISTENȚA

În produsul patologic (falsele membrane), la adăpost de lumină, b. difteric rezistă cîteva luni; moare în 5—10 min la 50°C—60°C căldură umedă.

SENSIBILITATE LA ANTIBIOTICE

B. difteric (ca și alte specii *Corynebacterium*) este sensibil practic la toate antibioticele, exceptînd polimixine; cele mai mici CMI au fost demonstrate pentru E, Clindam., P, Ceph (cu aceeași eficiență indiferent de tipul de colonie). Nu s-au pus în evidență tulpini cu rezistență dobîndită pentru nici un A.

STRUCTURA ANTIGENICĂ ȘI PATOGENITATEA

B. difteric este o bacterie tipic toxigenă lipsită de factori speciali de virulență.

Structurile superficiale de perete polizaharide și proteine sînt foarte heterogene; au fost puse în evidență prin aglutinări cel puțin 57 serotipuri; reacțiile încrucișate între cele 3 variante culturale sînt puține. Posedă un Ag de perete mai profund, comun tuturor tipurilor și altor specii *Corynebacterium* (cu specificitate de gen).

Exotoxina difterică asigură întreaga patogenitate a bacteriei; este prezentă în filtratul de cultură; este o proteină labilă la 75°C, cu gr. mol.

72 000, care a putut fi purificată și cristalizată, letală pentru animale în doze de 0,2 µg/kg corp, este puternic antigenică, poate fi titrată *in vitro* și *in vivo* și transformată în produs netoxic dar vaccinant, în anatoxină.

Titrarea toxinei se face pe cobai în doze letale minime : 1 DLM de toxină difterică reprezintă cea mai mică cantitate capabilă să omoare în decurs de 4 zile cobaiul de 200—300 g, injectat subcutanat, cu simptome caracteristice : hemoragii în capsulele suprarenale, edem la locul de injectare, poliserozită hemoragică. Raportată la kg corp, toxina difterică este de aproximativ 10× mai toxică pentru om decît pentru cobai. În raport cu toxigenitatea tulpinii și calitatea mediului folosit pentru prepararea toxinei, se pot obține filtrate de cultură conținînd pînă la 4 000—5 000 DLM/ml (1 DLM pentru cobai corespunde la 1 µg de toxină purificată). Toxina poate fi titrată și *in vitro* în unități floculante, ca și anatoxina.

Variația toxigenității. Freeman în 1951, *Ciucă* și colab. au descoperit că toxina difterică este elaborată numai de tulpini lizogenizate, purtătoare a unui anumit profag (fag temperat) care are determinantul numit *tox*⁺. Prin expunerea unei tulpini netoxigenă la acest profag, tulpina devine lizogenizată și toxigenă, fenomenul este numit *conversie lizogenică* (cap. XIII B ; cap. X B 2). Elaborarea toxinei este codificată de genomul profagului prin determinantul *tox*⁺.

Anatoxina difterică este toxina detoxifiată cu imunogenitate conservată, obținută prin formolare, încălzire și învechire : la 1 000 ml toxină — filtrat de cultură în mediu lichid — se adaugă 4 ml aldehidă formică (formol comercial 40%), la pH 8 ; se menține 30—40 zile la 40°—42°C, cu aerare continuă). O bună *anatoxină* este total lipsită de toxicitate și cît mai vaccinantă : conține minimum 15—20 unități floculante/ml (UF este cantitatea de anatoxină floculată în minimum de timp de o unitate antitoxică internațională, UAI, de ser antidifteric, *antitoxină*).

Serul antitoxic antidifteric, folosit în terapia difteriei, se prepară pe cal prin hiperimunizare cu anatoxină și apoi cu toxină. Serul se titrează în UAI, în baza unui etalon : 1 UAI este cantitatea de antitoxină capabilă să neutralizeze 100 DLM dintr-o toxină proaspăt preparată și nedegradată. Titrarea se face și *in vitro*, prin floculare : unitatea floculantă (UF) este reprezentată de cantitatea de antitoxină capabilă să floculeze în cel mai scurt *(limes, limitis)* timp 100 DLM toxină, sau echivalentul său în anatoxină.

DIFTERIA

Contaminarea cu b. difteric are loc prin picături Pfügge, mai rar prin obiecte (batiste), veselă, jucării, cărți și alte obiecte de la purtător sau bolnav.

Patogenie. B. difteric ajuns în rinofaringele individului nevaccinat (receptiv) produce infecție : se înmulțește pe suprafața mucoasei, elaborează toxina care, datorită proprietăților congestive și necrozante, produce inflamație locală cu formarea falselor membrane furnizînd astfel un teren mai favorabil cultivării bacteriei și producerii de toxină. Lipsiți de invazivitate, bacilii rămîn cantonați la poarta de intrare ; toxina este absorbită în organism determinînd alterări toxice în mușchiul inimii, ficat, suprarenale, rinichi, uneori însoțite de hemoragii; toxina produce și alterarea sistemului nervos periferic. Manifestările clinice de miocardită, nefrită interstițială acută, polinevrite, paralizii, sînt expresia clinică a acestor leziuni organice.

Experimente pe cobai și în culturi de celule au arătat că pentru a produce alterare sînt necesare aproximativ 200—400 molecule de toxină per celulă receptivă; că apariția alterărilor necesită expunerea celulelor la toxină 5—6 ore, timp în care toxina poate fi neutralizată de antitoxină. Mecanismul de intoxicare constă în oprirea sintezei proteinelor prin interferarea transferului de către ARN-s; urmată după cîteva ore de efect citopatic.

Simptomatologie. Difteria evoluează acut, caracteristică fiind prezența falselor membrane, depozite alb-cenușii, membranoase, strălucitoare, aderente de mucoasă, concomitent cu adenopatie regională dureroasă. Poarta de intrare poate fi o mucoasă sau plagă:

— faringita difterică reprezenta 75% din cazurile de difterie;

— laringita sau crupul difteric, 20% (respirație dificilă, sufocare, cornaj datorate obstruării lumenului prin îngroșarea și desprinderea membranelor);

— rinita difterică, 4%;

— rareori, conjunctivită difterică, difterie genitală, a plăgilor.

Supraviețuitorii netratați pot rămîne cu sechele miocardice, paralizii etc.

Imunitatea este umorală; Ig antitoxice neutralizează toxina, imunitate antitoxică (cap. XIX): ajuns pe mucoasa individului vaccinat, b. difteric este incapabil de a mai produce intoxicația; el poate vegeta pe mucoasă; toxina elaborată puțin cîte puțin este continuu neutralizată de antitoxina circulantă existentă; imunitatea este astfel potențată după principiul verificat experimental și prin vaccinarea de masă a copiilor cu TAT. *Drăgoi, Michel și Iancu* au demonstrat experimental și o valoroasă *protecție antiinfecțioasă* prin Ac antidifterici antibacterieni (protecție asigurată la om de starea de purtător sănătos de b. difterici netoxigeni, imunizare ocultă), justificînd astfel și experimental că purtătorii de difterici netoxigeni nu trebuie sterilizați cu antibiotice.

DIAGNOSTICUL DIFTERIEI

Este în primul rînd clinic; *diagnosticul bacteriologic* este numai de confirmare (evidențierea b. difteric în leziunile de la poarta de intrare), un diagnostic bacteriologic negativ nu poate infirma diagnosticul clinic corect (înmulțirea b. difteric la nivelul leziunii este uneori discretă, și culturile pot rămîne negative. Pe de altă parte, bacilul difteric poate fi prezent la purtători sănătoși). Eficiența tratamentului este în raport direct cu precocitatea instituirii lui: orice suspiciune clinică de difterie, indiferent de confirmarea sau nu de către laborator, impune instituirea imediată a tratamentului specific, ser antidifteric.

TRATAMENT

Tratamentul difteriei se adresează toxinei și bacteriei: (i) neutralizarea toxinei difterice cu antitoxina difterică, tratament imunologic specific; (ii) pentru sterilizarea mucoasei de b. difteric și încetarea producerii de toxină se folosește antibioticoterapia. Controlul sterilizării se face bacteriologic; convalescentul este considerat sterilizat de b. difteric toxigen după trei tampoane succesive negative, luate la intervale de o săptămînă.

Diagnosticul de bacil difteric *la bolnav și în scop epidemiologic* pentru controlul purtătorilor sănătoși se bazează pe punerea în evidență a caracterelor morfotinctoriale și culturale care permit încadrarea în genul *Corynebacterium*; diferențierea de speciile netoxigene prezente în flora normală a mucoaselor se face pe baza caracterelor biochimice diferențiale și prin demonstrarea toxinogenezei (tabel 72). Toxinogeneza se pune în evidență prin test de precipitare în geloză (metoda Elek): pe placa cu geloză-ser (20% ser de cal) se aplică o bandă de hîrtie de filtru îmbibată cu ser antidifteric (sterile). În striuri perpendiculare este însămînțată tulpina sau tulpinile de identificat izolate de la bolnav sau purtători; dacă tulpina este toxigenă, în 24—48 ore de incubare la 37° are loc precipitarea la zona de întîlnire toxină-antitoxină în proporții optime.

Tabelul 72

Caractere de diferențiere a speciilor *Corynebacterium* prezente, uneori, la om

	hemoliză	acidifiere			factori de patogenitate	aspect-colorare
		glucoză	sucroză	maltoză		
C. diphteriae	+	+	−(+)	+	exotoxina	1—8/0,3—0,8 µm; frecvente granulații metacromatice *); gram + la limită; așezați în litere unghiulare X, V, N, mai rar în palisade.
C. pseudodiphtericum (b. hofmanni)	—	—	—	—	—	0,5—2/0,3—0,5 µm; rare granulații metacromatice; intens gram + așezați mai ales în palisade;
C. xerosis (*b. cutis comunis*)	—	+	+	—	—	intens gram +; predomină formele barate; așezați în palisade;
C. pseudotuberculosis (*ulcerans*)	+	+	V	+	lipid analog „cord-factor"-lui (f. de sensibilizare)	1—3/0,5—0,6 µm; similar cu *C. diphteriae*

* Granulațiile metacromatice sînt mai ușor puse în evidență prin colorații simple cu albastru de metilen, albastru de toluidină (soluții învechite).

În scop epidemiologic, este posibilă lizotiparea tulpinilor de *C. diphteriae* cu setul de 19 (aproximativ) fagi difterici, pus la punct în Inst. Cantacuzino București de *Saragea* și *Maximescu.*

PROFILAXIE

Profilaxia în focar epidemic constă în seroprofilaxie și vaccinare, atît la copii mici, cît și la copii mari *Schick-pozitiv* (contacți intimi de difterie);

se administrează 2 500—3 000 UAI ser antitoxic antidifteric, urmat de vaccinare; la copii *Schick-negativ* se face numai revaccinare.

Profilaxie generală. (i) Copilul se naşte cu fondul de IgG antidifterică transmis transplacentar, fiind protejat de infecţie pînă la 4—5 luni, după care devine susceptibil de-a face boala; de aceea, *vaccinarea antidifterică* începe după a 3-a lună de viaţă, şi constă din două doze i. m. de anatoxină (la 30 zile interval), urmată de 3 revaccinări (cîte o doză anual). Se utilizează trivaccinul difterotetanopertussis. Controlul imunizării se face prin reacţia Schick*; nivelul general de imunitate antidifterică în ţara noastră este de 95—98% indivizi Schick-negativ (Drăgoi, Michel, Iancu, 1976).

(ii) Depistarea sistematică bacteriologică a purtătorilor de b. difteric toxigen urmată de sterilizare cu antibiotice (eritromicină).

BIBLIOGRAFIE

1. BABEŞ V.: Sur la vaccination des toxines latents contre-balancées par des antitoxines sanguines. (1895) *Opere alese,* vol. 1, 1954.
2. BELSEY M. A. et all.: *Corynebacterium diphtheriae* skin infections. *N. Engl. J. Med., 280,* 135—141, 1969.
3. CASTETS M., MORA M.: Sensibilité aux antibiotiques de *Corynebacterium diphtheriae. Nouv. Presse Méd., 3,* 15, p. 962, 1974.
4. DRĂGOI T., MICHEL I., IANCU L.: Cercetări experimentale asupra imunităţii antibacteriene în difterie. *Sesiunea ştiinţifică anuală Inst. I. C. Cantacuzino,* vol. XIV, 142—145, 1976.
5. FARSEY S. J.: Une façon raisonnable d'aborder la vaccination antidiphtérique dans les pays en voie de développement. Din „*Séminaire sur les vaccinations en Afrique*", Kampala 7, 8, 9, 10 Décembre 1971.
6. HUTCHISON J. G. P., GEDDES A. M.: Recognition of diphteria. *Lancet,* 7 921, p. 1 377, 1975.
7. JEPHCOTT A. E., PATH M. C. R., GILLESPIE E. H., DAVENPORT C., EMERSON J. W., MORONEY P. Y.: Non-toxigenic *Corynebacterium diphtheriae* in a boarding school. *Lancet,* 7 914, p. 1 025, 1974.
8. MILLER L. W., OLDER J. J., DRAKE J., ZIMMERMAN S.: Diphteria immunization. *Am. J. Dis. Child., 123,* 3, p. 197, 1972.
9. MAXIMESCU P. P., SARAGEA A., DRĂGOI T.: Additional phage-typing scheme for *C. diphteriae. Arch. Roum. Path. Exp. Microbiol.,* 31, 357—366, 1972.

---

* Reacţia *Schick* este un test imunologic de punere în evidenţă a stării de imunitate antitoxică antidifterică. Reacţia constă în injectarea a 0,1—0,2 ml toxină difterică, reprezentînd o unitate reacţională intradermică = cantitatea cea mai mică de toxină capabilă să determine în organismul neimunizat o simplă reacţie locală cu eritem şi edem (doză egală cu 1/50 DLM pentru cobai). Reacţia este negativă la indivizii bine imunizaţi, al căror ser conţine minimum 0,03 UAI/ml putînd ajunge la ⩾ 3—4 UAI/ml, şi pozitivă la persoanele neimunizate sau incomplet imunizate, susceptibile de a face boală.

10. MAXIMESCU P., RUDESCU M.: Rolul proteinelor netoxice în imunizarea antidifterică naturală. Studiul toxinei difterice şi a proteinelor netoxice înrudite, produse de tulpini atipice şi sălbatice de *C. diphtheriae*. *Ses. St. Anuală I. C.* (XIV), 140—142, 1976.

11. RAMON G.: Les vaccinations anatoxiques en France et dans le monde. *Rev. d'immunol. et de thérap. antimicrob.*, *26*, 4, 1—296, 1962.

12. REY M.: Vaccination antidiphtérique en Afrique. Din „*Séminaire sur les vaccinations en Afrique*", Kampala 7, 8, 9, 10 Décembre 1971.

13. STĂNICA E., STOIAN C., CUSA E.: Caracteristicile determinate de actuala schemă de vaccinare antidiftero-tetanică. *Ses. St. Anuală I. C.* (XIV), 145—147, 1976.

14. WOODRUFF M.: *Corynebacterium parvum* and nude mice. *Lancet*, 7 921, p. 1 377, 1975.

15. * * *: Diphtheria. W. H. O. Wkly Epidem. Rec., 1976 (17, 45, 47); 1977 (1, 26).

XXXII. ORDINUL ACTINOMYCETALES

Este alcătuit din bacili gram-pozitiv, unii acidoalcoolorezistenţi, care prezintă analogii morfologice cu micete filamentoase: au tendinţa de a forma filamente ramificate; cele mai multe specii saprofite formează adevărate micelii şi spori pe capătul hifelor. Speciile patogene au filamente scurte sau care tind să se rupă, putînd fi văzute numai în anumite stadii de cultivare sau în ţesuturi infectate. (În 1897, *Babeş* şi *Levaditi* descriau forma actinomicotică a bacilului Koch şi a bacilului leprei — posibilitatea de ramificare —, fapt care a stat la baza creării genului *Mycobacterium*).

Ordinul **Actinomycetales** cuprinde 7 familii, majoritatea cu specii saprofite, prezente în sol, ape, simbiote în nodulii din rădăcinile unor plante, (ca fixatoare de N), unele sînt parazite şi patogene pentru plante, altele comensale sau strict patogene la animale şi/sau numai la om tabel 73).

Tabelul 73

Ordinul *Actinomycetales*: familii, genuri şi specii întîlnite la om

Familii	Genuri	Specii	Caracteristici	
Mycobacteriaceae:	*Mycobacterium*	*M. leprae*	necultivabil,	AAR
		M. tuberculosis *M. bovis* M. condiţionat patogene (multe specii; tabel 74)	aerobe,	AAR
Actinomycetaceae:	*Actinomyces*	*Act. israelii* *Act. naeslundii* *Act. viscosus*	anaerobe-facultativ anaerobe	ne-AAR
	Arachnia *	*Ar. propionica*	facultativ anaerob	AAR
Nocardiaceae:	*Nocardia*	*N. asteroides*	aerob	
		N. brasiliensis	,,	
Dermatophilaceae:	*Dermatophilus**	*D. congolensis:*	aerob,	ne-AAR

AAR = acidoalcoolorezistent.

* *Arachnia*, strîns înrudit cu *Actinomyces*, poate da infecţii similare cu granule „sulf", şi infecţii lacrimale; *Dermatophilus* determină la mamifere şi rar la om, invadare şi leziuni ale epidermului necornificat.

A. GENUL MYCOBACTERIUM

Mycobacterium, singurul gen al familiei *Mycobacteriaceae*, încadrează 30 specii : bacili subțiri, drepți sau ușor încurbați, nesporulați, imobili, grampozitiv și acidoalcoolorezistenți (AAR), aerobi ; cuprinde specii de la saprofite ale mediului extern, pînă la strict parazite și patogene numai pentru om.

Mycobacteriile se diferențiază de alte genuri prin *acidoalcoolorezistență* (toate celelalte bacterii, cu excepția speciilor patogene *Nocardia*, sînt ne-AAR), *cultivarea lentă* (în 2—3 săptămîni și chiar mai mult, puține specii cultivă în 3—4 zile), numai pe *medii speciale* (Loewenstein-Jensen, cu unele excepții), *rezistența mare la uscăciune și alți factori fizici și chimici* (comparativ cu toate celelalte specii nesporulate), *sensibilitate diferită la A și Ch* (tabel 75).

În raport de habitat și patogenitate naturală diferențiem:

(i) specii strict parazite și patogene numai pentru om, *M. leprae;*

(ii) specii strict parazite și patogene pentru om și animale, ca *M. tuberculosis, M. bovis;*

(iii) specii de diferite origini (saprofite, patogene pentru alte specii animale), condiționat patogene pentru om, ,,oportuniste'', numite generic mycobacterii ,,atipice'' : *M. avium, ulcerans, intracellulare (battey), fortuitum, kansasii, marinum (balnei), scrofulaceum, xenopi* (tabel 74) ;

(iv) specii saprofite — comensale, nepatogene, *M. smegmatis* (prezent în smegmă și în materii fecale), *M. gastri, triviale, terrae, nonchromogenicum, gordonae* (prezente numai în spălătură gastrică), pun probleme de diagnostic diferențial în cazul TBC renale, cînd se recoltează urina, și în cazul izolărilor din spălătură gastrică, recoltată pentru diagnostic de TBC pulmonară ;

(v) specii patogene pentru animale : *M. paratuberculosis* (agentul enteritei hipertrofiante a bovinelor și ovinelor, bacilul lui *Johne*), *M. microti*(agentul tuberculozei rozătoarelor mici de cîmp), *M. lepraemurium* sau bacilul *Stefansky* (agentul leprei murine), *M. chelonei* și *M. thamnopheos* (patogene pentru animale cu sînge rece) ;

(iv) specii saprofite ale mediului extern nepatogene, *M. phlei.*

În raport cu posibilități de cultivare pe medii artificiale se diferențiază:

— *specii necultivabile, M. leprae* și *M. lepraemurium* ;

— *specii care cultivă lent*, în 2—4 săptămîni *M. tuberculosis, M. bovis, M. avium* și majoritatea *M.,,atipice''* (tabelul 74) ;

— *specii care cultivă repede*, în 2—3 zile, *M. fortuitum, M. smegmatis*, specii saprofite ale mediului extern.

În raport cu patogenitatea pentru om, mycobacteriile determină boli cu caracter cronic :

— *tuberculoza* dată de *M. tuberculosis*, mai rar de *M. bovis*, cu numeroase forme clinice și localizări, cea mai frecventă fiind TBC pulmonară pentru *M. tuberculosis* și TBC intestinală pentru *M. bovis;*

— *micobacteriozele*, infecții granulomatoase, necrozante, cronice, greu de diferențiat clinic și radiologic de diferitele forme de TBC, date de mycobacteriile condiționat și accidental patogene, și

— *lepra*, dată de *M. leprae*, cu două forme clinice majore, lepra tuberculoidă și lepra lepromatoasă.

Specii *Mycobacterium* care pot fi găsite

Grad de patogenitate pentru om	Specii	Boala la om	Habitat şi patogenitate naturală	Infecţie experimentală	
				cobai ↓ i.v. 0,01 mg	iepure ↓ i.v. 0,01 mg
Înalt patogene	*M. leprae*	lepră	Om	—	—
	M. tuberculosis	TBC	Om (bovine şi alte mamifere).	++++	±
	M. bovis	TBC	Bovine (om şi alte mamfere).	++++	++++
Condiţionat patogene	*M. avium*	TBC	Păsări (rar om).	—	++++
	M. ulcerans	ulcere cronice	?	—	—
	M. intracellulare (*battey*)	b.p.c.[1]	(Bovine, porcine)	—	—
	M. fortuitum	b.p.c.	Sol-animale.	—	—
	M. kansasii	b.p.c.	(Porcine-bovine)	—	—
	M. marinum (*balnei*)	ulcere cronice	Ape-peşti	—	—
	M. scrofulaceum	limfadenită	?	—	—
	M. xenopi	b.p.c.	Broască.	—	—
Nepatogene (saprofite-comensale)	*M. smegmatis*		Smegmă, sol.		
	M. gastri		Mucoase (spută, spălătură gastrică), sol.	—	—
	M. triviale		idem	—	—
	M. terrae		idem	—	—
	M. gordonae		idem	—	—

[1] b.p.c. = boală pulmonară cronică simulînd tuberculoza; [2] = inoculat în plantă la şoarece imunodepresat, *M. leprae* se înmulţeşte; F = fotocromogen; S = scotocromogen (pigment galben-oranj); [3] = numai la 30 — 32°C, în ⩾ 4 săpt.; [4] = numai la 30 — 32°C ⩾ ⩾ 7 zile. O=necultivat

1. MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS, M. BOVIS, M. „ATIPICE"

Istoric. *Villemin* (1865) a demonstrat existenţa unui „agent" al tuberculozei (TBC) în materialul cazeos pulmonar, cu care a reprodus boala la animale. *R. Koch* (1882) a izolat în cultură pură agentul tuberculozei care îi poartă numele, bacilul *Koch* (BK). *V. Babeş* (1883) a pus în evidenţă BK în urină şi a descris TBC genito-urinară; *V. Babeş* în 1883 colora bacilul *Koch* prin încălzire şi-l diferenţia prin decolorare cu alcool, timpi folosiţi în coloraţia numită

Tabelul 74 (continuare)

la om, caractere diferenţiale

Infecţie experimentală		Cromogeneză N F S	Colonii smooth – rough	Timp de cultivare la 37°C	Testul Konno	Reducere nitrat	Urează	Catalază la 68°C	Creştere la 45°C
şoarece ↓ i.v. 0,001–1 mg	pui de găină ↓								
±[2]	–	–	–	O	–	–	–	–	O
++++	–	N	„R"	2–4săpt.	+	+	+	–	–
++++	–	N	„S"-„R"	3–4 săpt.	–	–	+	–	–
++++	++++	N	„S"	1–4 săpt.	–	–	–	+	±
↓ în plantă = ulcer în 2–3 săptămîni	–	N	„S"-„R"	– 3)	+	–		+	–
– sau ++++ (infecţii uşoare)	±	N (gălbui)	„S"	⩾7 zile	–	–	–	+	±
– sau ++++ (moarte în 48 ore)	–	N	„S"	2–4 zile	–	+	+	+	–
++++ (moarte în 1–4 luni)	–	F	„S"	⩾7 zile	–	+	+	+	–
↓ în plantă = ulcer în 5–6 zile	–	F	„S"	– 4)	–	–	+	–	–
– sau ++++ (moarte în 8–10 luni)	–	S	„S"	⩾7 zile	–	–	+	+	–
– sau ++++ (leziuni pulmonare)	±	S	„s"	⩾14 zile	–	–	–	+	2–4 săpt.
–	–	N (gălbui)	„S"	2–4 zile	–	+	+	∓	+
–	–	N	„S"	⩾7 zile	–	–	+	–	–
–	–	N	„R"	>7 zile	–	+	–	+	–
–	–	N	„S"	⩾7 zile	–	+	–	+	–
–	–	S	„S"	⩾7 zile	–	–	±	+	–

azi Ziehl-Neelson. *Koch* (1890) a descoperit *tuberculina* (o proteină extrasă din BK) folosită şi azi pentru depistarea susceptibilităţii la infecţie.

Încă de atunci, se cunoştea identitatea anatomo-clinică între ftizia (tuberculoza) umană, bovină şi aviară; ulterior, s-a demonstrat că omul este susceptibil şi la infecţia cu *M. bovis*, agentul TBC bovine; de curînd, a fost reconfirmată existenţa TBC umane dată, *ocazional*, de *M. avium*, agentul TBC păsărilor.

S-a constatat apoi că procese cronice ca bronhopneumonii ulcerocazeoase, adenite cervicofaciale, ulcere cutanate, greu de diferenţiat de TBC, pot fi date şi de alţi acidoalcoolorezistenţi (consideraţi anterior, fie saprofiţi, fie patogeni animali). Varietatea de specii capabile să determine astfel de procese este mare (tabel 74), iar aceste infecţii sînt denumite în general micobacterioze. *Runyon* (1959) le-a diferenţiat în 4 grupe: specii *fotocromogene*, *scotocromogene*, *necromogene* cu creştere lentă, (2–4 săpt.) şi *mycobacterii cu creştere rapidă (2–7zile)*.

HABITAT, CONTAMINARE

M. tuberculosis, bovis și *avium* sînt specii strict parazite, habitatul lor natural fiind reprezentat de țesuturile indivizilor bolnavi (om, mamifere, păsări).

Omul elimină BK în special prin spută în timpul tusei, vorbirii (TBC pulmonară fiind cea mai frecventă formă de TBC), mai rar prin urină, materii fecale. Se apreciază că un tuberculos cavitar poate elimina pînă la 15—20 milioane BK pe zi, contaminarea pe calea aerului fiind cea mai frecventă (BK rezistă săptămîni și luni de zile în praf, la adăpost de UV).

Bacilul tuberculozei bovine este eliminat în mediul exterior mai ales prin lapte, mastita tuberculoasă fiind manifestarea obișnuită la bovine: 1 ml de lapte provenit de la vacă cu mastită tuberculoasă conține pînă la 100 000 BK/ml; contaminarea omului are loc pe cale digestivă prin lapte și produse lactate nepasteurizate; frecvența TBC prin *M. bovis (lapte)* și *M. avium* (carne, ouă) este dependentă strict de posibilități de contaminare digestivă cu produse provenite de la vaci și păsări bolnave; bacilii pătrund prin mucoasa buco-faringiană dînd *TBC ganglionară cervicofacială*, sau prin intestin dînd *TBC ganglionară mezenterică*.

Alte posibilități sînt pătrunderea BK prin mici soluții de continuitate ale pielii, originea tuberculozei cutanate; contaminare genitală, mai rară.

Posibilitățile de contaminare, chiar în prezent, în plină epocă a luptei antituberculoase, sînt foarte numeroase: 57% din nevaccinați fac infecție *TBC primară* pînă la vîrsta studenției (Franța).

Habitatul natural al mycobacteriilor „*atipice*" nu este bine cunoscut, dar sînt prezente în mediul extern, mai ales în ape (de robinet, de piscină, de mare) și în sol. Contaminarea cu astfel de bacterii ar avea loc pe cale respiratorie, prin praf și prin intermediul apei (scăldat, înot). Pătrunderea în țesuturi este condiționată de existența de leziuni cutanate, ale mucoasei și epiteliului respirator; cele mai frecvente sînt infecțiile pulmonare cu *M. kansasii* (saprofit al apelor ca toți fotocromogenii; a fost găsit și în lapte).

MORFOLOGIE ȘI COLORABILITATE

Mycobacteriile sînt bastonașe subțiri, de lungimi variabile (1—5 μm/0,3—0,6 μm), drepți sau ușor încurbați; în frotiuri apar izolați sau grupați cîte 2—3 dînd aspect de litere în unghiuri: N, X, Y, Z (fig. 124).

Spre deosebire de celelalte bacterii, mycobacteriile se colorează numai la cald, datorită prezenței în peretele celular a unui procent ridicat de ceruri; sînt gram-pozitiv, dar se colorează mai bine prin colorația Ziehl-Neelsen fiind *acidoalcoolorezistente* (după ce se colorează la cald, rezistă la decolorare cu acizi minerali diluați și cu alcool).

Prin colorația Ziehl-Neelsen (colorare la cald cu fucsină fenicată, decolorare cu acid azotic 1/3 și alcool, spălare și recolorare cu albastru de metilen*), mycobacteriile apar în roșu (rezistente la decolorare), iar fondul frotiului (resturi celulare, proteine necelulare, și toate celelalte bacterii) se recolorează în albastru; acidoalcoolorezistența este patognomonică pentru diagnosticul de gen *Mycobacterium*. Se colorează uneori neuniform și *apar granulari*.

---

* Mycobacteriile nu sînt întotdeauna omorîte prin colorare.

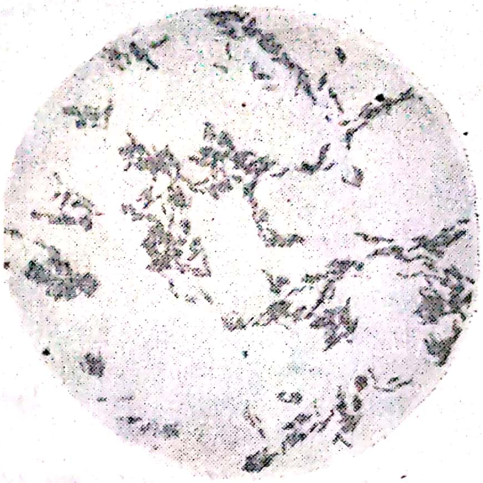


Fig. 124: M. tuberculosis; se observă bacili așezați în cordoane curbate (*Topley,* 1955, p. 504).

Examinarea în lumină UV: mycobacteriile impregnate cu auramină (la cald) rezistă decolorării după tehnica Ziehl-Neelsen și pot fi puse în evidență în examen microscopic în lumină UV, cu obiectiv uscat: pe fondul opac al frotiului, BK apar fluorescenți. Metoda este mai sensibilă decît examenul cu imersie (mărire 1 500—2 000 ×) deoarece, cu obiectiv uscat (mărire 300×), se examinează o zonă mult mai mare de frotiu, în același interval de timp. *Pentru a afirma absența BK într-un frotiu de spută, medicul trebuie să examineze minimum 50 cîmpuri cu obiectiv cu imersie.*

Speciile *Mycobacterium* „atipice" și nepatogene nu pot fi în general diferențiate microscopic de *M. tuberculosis* și *bovis.*

CULTIVARE

Mycobateriile sînt strict aerobe; M. patogene, *tuberculosis*, *bovis*, ca și majoritatea celor condiționat patogene cresc numai pe medii (m.) speciale, lent, în 2—4 săptămîni, la temp. de 37°C (unele M. „atipice" cresc și la temp. sub sau peste 37°C; v. tabel 74).

Ca surse de C, cele mai bune s-au demonstrat glicerolul și piruvatul de Na (mai ales pentru *M. bovis* care scindează mai greu glucoza și glicerina pînă la piruvat); ca sursă de N, mycobacteriile pot utiliza acizi aminați, săruri de amoniu, amide; asparagina, o amidă, este o sursă f. bună *(Loewenstein)*; după *Dubos,* acidul glutamic (0,3%) este superior.

Mediile solide actuale se prepară fie pe bază de *gălbenuș de ou* (ca m. *Loewenstein-Jensen* cu asparagină, feculă de cartof, glicerină, săruri, sau mediul *Coletsos* cu glutamat, oseină, săruri și piruvat de Na), fie pe bază de *gălbenuș și agar* (ca medii cu piruvat și telurit), fie pe bază de *agar* (ca m. *Baird-Parker* cu piruvat și glicină, fără asparagină, dar cu extract de carne, levură și digestie pancreatică de caseină). La mediile de izolare se adaugă și inhibitori ai florei de contaminare ne-AAR, ca verdele de malachit.

Coloniile de *M. tuberculosis*, la izolarea din organism, devin vizibile în 14—21 zile, cresc mari, de cîtiva mm, „R"-conopidiforme foarte caracteristice (fig. 125). *M. bovis* dă frecvent colonii „S". *M. atipice* dau aproape constant colonii „S" pigmentate; cele fotocromogene formează pigment galben ca lămîia la lumină (nu și la întuneric); cele scotocromogene pigmentează la întuneric, galben-oranj.

Pe m. lichide cresc numai la suprafață, mediul rămînînd limpede; dă un văl care cuprinde treptat toată suprafața mediului, se ridică puțin și pe perete, se îngroașă mult și se plisează, este foarte caracteristic (fig. 126).

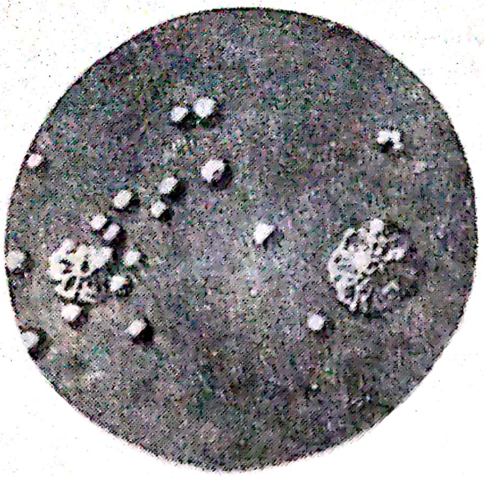


Fig. 125: *Mycobacterium avium*, colonii R și S (*Topley*, 1955, p. 504).

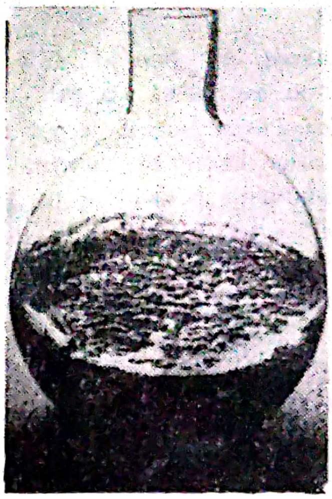


Fig. 126: *Mycobacterium tuberculosis*, cultură de 6 săptămîni pe suprafața mediului lichid glicerinat (*Topley*, 1955, p. 500).

CARACTERE BIOCHIMICE

Sînt folosite în teste de diferențiere a speciilor; de exemplu, *M. tuberculosis* dă testul pentru acid nicotinic* pozitiv, spre deosebire de toate celelalte specii inclusiv *M. bovis* (tabel 74).

În precizarea unei specii se reține faptul că (i) orice caracter, chiar major, poate varia (procentele de pozitivitate sînt în jur de 84%), (ii) că punerea lor în evidență se face în baza unor teste f. bine standardizate pentru ca procentele de pozitivitate să corespundă de la laborator la laborator.

REZISTENȚA LA AGENȚI FIZICI ȘI CHIMICI

Mycobacteriile sînt mai rezistente în general decît bacteriile ne-AAR. Rezistența mai mare se explică prin conținutul ridicat în lipide al peretelui bacterian. *M. tuberculosis* este omorît în 10—24 zile de lumina solară directă și uscăciune; este omorît în 30 ore de UV directe; la adăpost de lumina solară și la uscăciune rezistă 6—8 luni; în ser fiziologic este omorît în 10 min. la 60°C; în lapte, este omorît în 30 sec. la 80°C. Rezistă mult timp în cadavre și în apele de canal. De aceea, *produsele patologice conținînd bacilii tuberculozei, înainte de a fi evacuate, trebuie sterilizate prin mijloace fizice sau chimice.*

Bacilul Koch este omorît în 12—24 ore în bromocet 1%, în apă fenicată 5%, lizol 1%, crezol 4%; detergenții anionici, soluții calde, concentrate, îi omoară în 24—48 ore, fiind buni dezinfectanți pentru scuipători.

---

* Producere de acid nicotinic (testul *Konno*).

PATOGENITATE EXPERIMENTALĂ

Este foarte variabilă de la specie la specie și reprezintă criteriu de diferențiere (tabel 74):

Mycobacteriile condiționat patogene sînt lipsite de patogenitate pentru cobai și iepure și sînt slab patogene pentru șoarece; excepție *M. avium* care este patogen pentru iepure;

M. tuberculosis este foarte patogen pentru cobai și șoarece; *M. bovis*, pentru cobai, șoarece și iepure. De fapt, toate mamiferele sînt sensibile la infecția experimentală și chiar naturală cu speciile patogene (bovine, maimuțe, cîine, pisică etc.); mari variații de răspuns au loc în raport cu cantitatea de *inoculum* (nr. de bacili) și calea de inoculare (i. v., s. c., i. p., intraplantar).

Cobaiul este foarte sensibil: face infecție după inoculare cu un singur BK, iar infecția este 100% mortală, în interval de 1 1/2—5 luni (v. fenomenul *Koch*).

STRUCTURA ANTIGENICĂ ȘI FACTORI DE PATOGENITATE

Bacilul Koch este o bacterie cu *virulență redusă* pentru om, *foarte sensibilizantă*, lipsită de toxicitate (primară).

Virulența este asigurată de factorul „cord", o *materie capsulară cu funcție antifagocitară*, reprezentată de un lipid complex, excretat; bacilii înglobați în acest lipid rămîn cu aceeași orientare, formînd „corzi" (care pot fi vizualizate microscopic, fig. 124). Acest factor asigură bacteriei capacitatea de colonizare inițială, prin rezistența la înglobare în PN și înmulțire extracelulară. Tulpinile care nu secretă acest lipid sînt slab virulente (capabile să dea microinfecții inaparente dar imunizante), *sensibilizante*, și cresc „dezordonat" (nu formează corzi). O astfel de variantă a fost obținută de *Calmette* și *Guérin*, prin multe pasaje pe medii cu bilă, a unei tulpini bovine, din care se prepară vaccinul, numit BCG (bilivaccin *Calmette-Guérin*).

Virulența bacilului Koch este foarte variabilă în raport cu specia animală; astfel, primo-infecția cobaiului este 100% mortală, în timp ce primo-infecția omului evoluează inaparent la 97% din indivizi, determinînd totodată o bună imunitate antituberculoasă.

Factorul sensibilizant. Bacilul Koch este o bacterie tipic facultativ intracelulară*, factorul sensibilizant fiind un complex lipo-proteic, de perete, din care face parte și tuberculina. Nici lipidul, nici proteina (tuberculina) nu sînt antigenice în stare pură; dealtfel, în ceea ce privește lipidele pure, este bine demonstrată lipsa lor de antigenitate în general, iar în ceea ce privește tuberculina, ea este o proteină cu gr. mol. mică, 2 000, ceea ce explică de asemenea lipsa de antigenitate, după purificare experimentală.

Complexul lipoproteic în peretele bacteriei este însă foarte antigenic capabil să realizeze instruirea imunologică primară; sensibilizarea odată stabilită, reacția secundară poate fi declanșată nu numai de bacteria vie, ci și de bacteria moartă, sau numai de proteină=„reacția la tuberculină"

---

* Se înmulțește în macrofagul din organismul neimunizat.

(de tip IV, celular). În adevăr, tuberculina injectată la persoane (sau animale) trecute prin infecție, sau în cursul infecției TBC, poate declanșa :

— reacție inflamatorie *locală* (la locul injecției) care poate ajunge pînă la necroză ;

— reacții *focale*, inflamații la nivelul focarului de tuberculoză existent în organism, transformîndu-l în proces evolutiv ;

— fenomene *generale*, febră.

Dar, aceeași cantitate de tuberculină este suportată perfect de organismul care nu a făcut încă infecția tuberculoasă, nesensibilizat.

Reacţia la tuberculină este folosită în practică pentru diferenţierea persoanelor imunizate de cele neimunizate (susceptibile de a face infecţia). Folosind cantităţi foarte mici de tuberculină, injectate strict intradermic, este posibil să se determine o inflamaţie numai *locală*, nepericuloasă, şi care demonstrează că organismul a făcut infecţia tuberculoasă, sau a fost vaccinat, şi este imunizat ; reacţia se pozitivează în 1—2 zile şi dispare în 7 zile ; la persoane neimunizate, reacţia este negativă, ele trebuie vaccinate.

Tuberculinele dau reacţi imunologice încrucişate : indiferent care este mycobacteria infectantă *(M. tuberculosis, M. bovis, M. avium)*, reacţia de sensibilizare a organismului poate fi pusă în evidenţă cu o tuberculină preparată din oricare specie. O reacţie mai redusă este obţinută şi în infecţii date de *M. ,,atipice"*.

TUBERCULOZA

Importanța problemei. Se apreciază că există aprox. 20 milioane de tuberculoși pe tot globul, din care 7 milioane sînt contagioși, expectorează o spută încărcată cu BK ; aprox. 1,5—3 milioane mor și 3,5—3,8 milioane se îmbolnăvesc anual de TBC. În țările dezvoltate economic, totalul infecțiilor anuale era 0,5%, și depășea 2% în țări în curs de dezvoltare (între anii 1969—1972). TBC determină în medie 3,2—10,4% din toate cazurile de deces. Morbiditatea prin TBC în 1978 în țara noastră a fost 60 la 100.000 locuitori.

TBC pulmonară reprezintă pînă la 80% din toate localizările tuberculozei.

Majoritatea cazurilor sînt date de *M. tuberculosis* ; *M. bovis* dă procente de infecție care variază de la 0% (în țări în care s-a eradicat TBC la bovine), pînă la 20—35% (în țări în care eradicarea TBC bovine nu este terminată). Infecțiile prin mycobacterii condiționat patogene, în Europa, ar fi în jur de 0,1—0,3%.

Imunitatea în tuberculoză este de tip celular (IMC), iar cercetările de imunologie au pus semn de egalitate, din punctul de vedere al mecanismului de producere, între *imunitatea mediată de celule* și *fenomenele de sensibilizare de tip celular* (FSMC) (v. cap. XX).

Fenomenul Koch. Această identitate între IMC şi FSMC a fost demonstrată încă de *R. Koch*, prin fenomenul care îi poartă numele : inocularea de BK virulenţi, subcutanat, pe faţa internă a coapsei la cobaiul normal, este urmată, după 10—14 zile, de apariţia unui nodul focal, prinderea ganglionilor regionali, care, ca şi nodulul local, pot evolua pînă la cazeificare ; tuberculoza se generalizează pe cale limfatică şi cobaiul moare în 1—5 luni.

Dacă la un astfel de cobai, la 4—5 săptămîni după ce a fost tuberculizat, este inoculat din nou, subcutanat, la cealaltă coapsă, un acelaşi *inoculum*, are loc o reacţie de hipersensibilizare: în două zile se formează nodulul, necroza şi eliminarea întregului conţinut cazeos cu cicatrizare. Animalul sensibilizat „heperergic" s-a apărat puternic şi a eliminat noua infecţie, dar, va muri, din cauza focarelor inflamatorii multiple interne, care nu pot fi eliminate, şi care s-au produs înainte de imunizarea organismului.

În adevăr, reacţia inflamatorie, realizată de L.s.s. şi M în organism imunizat, se limitează cel mai adesea la o simplă îngrădire, localizare şi sterilizare a focarului de infecţie, ceea ce numim *imunitate mediată de celule*; uneori, se transformă în focar inflamator masiv care produce distrucţii tisulare, necroză, în care BK se înmulţesc masiv, reacţia devenind astfel dăunătoare propriului organism, ceea ce numim *fenomen de sensibilizare mediat de celule*.

După terminologia mai veche, această puternică reactivitate imunologică este numită *hiperergie*, spre deosebire de lipsa stării de reactivitate denumită *anergie*.

Experimental, este demonstrat că macrofage „activate" din organism imun, care au fagocitat pînă la 5—10 bacili Koch, sînt capabile să împiedice multiplicarea lor intracelulară şi să-i omoare, în timp ce macrofage „neactivate", provenite de la animale normale, deşi fagocitează, nu pot preveni multiplicarea intracelulară a bacililor Koch (au putut fi număraţi pînă la 50 BK într-un singur macrofag). (fig. 74).

Rolul jucat de anticorpii umorali în apărarea antituberculoasă este în general negat; există totuşi experienţe care arată că Ac umorali ar avea rol opsonizant, intensificînd capacitatea de fagocitoză.

Indiferent de localizare (pulmonară sau extrapulmonară) pot fi diferenţiate:

— primoinfecţia tuberculoasă, care evoluează în organismul neimunizat, nevaccinat şi este inaparenră în 97% din cazuri, şi

— tuberculoza boală, care evoluează în organism sensibilizat (imunizat), sau în organism anergic (lipsit de reactivitate imunologică).

Primoinfecţia tuberculoasă este procesul de pătrundere a BK în organismul nevaccinat; datorită redusei sale virulenţe pentru om, primoinfecţia evoluează, aproape totdeauna, inaparent, determinînd o bună imunizare, care se constată prin rezistenţa la reinfecţie a indivizilor care posedă „complexul primar tuberculos".

Contaminarea cu BK are loc mai ales pe calea aerului (picături Pflügge, praf); de pe mucoasa normală, bacteriile sînt continuu expulzate; cînd eficienţa barierelor de apărare locală scade (cap. XIII), bacilii ajung pe epiteliul respirator, unde sînt captaţi de macrofagele fixe alveolare (neactivate), în care se înmulţesc şi cu care ajung în ţesutul pulmonar şi în ggl. regionali hilari unde iniţiază procese de instruire imunologică. Prin instalarea IMC, înmulţirea în M încetează şi are loc delimitarea rapidă a focarului infecţios pulmonar şi ganglionar, prin mobilizare de limfocite şi M, *infiltrat monocitar* (v. cap. XX). Această delimitare este urmată de sterilizarea bacteriologică a focarului, cel mai adesea, fie cu *restitutio ad integrum*, fie cu fibrozare, calcifiere alcătuind „complexul primar" vizibil radiologic şi remanent: nodul calcifiat în parenchim şi în ggl. hilari, mărturia primei infecţii TBC.

Imunologic, se constată pozitivarea reacției la tuberculină; de aceea, la copilul mic nevaccinat, depistarea virajului tuberculinic (negativ-pozitiv) are valoare de diagnostic de infecție primară.

Cu cît contaminările sînt mai frecvente, cu atît infecția primară are loc la vîrstă mai mică.

Mai rar, la copii a căror mecanisme de apărare antiinfecțioasă imunologică sînt deficitare (boli infecțioase anterioare anergizante, distrofici, subalimentați, deficiențe primare și secundare ale imunității celulare etc.), primoinfecția tuberculoasă poate să evolueze însă grav, ca boală generalizată. Aceste situații sînt astăzi foarte rare datorită vaccinării generalizate adoptată în majoritatea țărilor.

Boala tuberculoasă de reinfecție. Ca urmare a imunizării prin primoinfecție sau vaccinare, contaminările ulterioare nu mai lasă urme, procentul acelora care fac boala de reinfecție fiind redus.

Tuberculoza de reinfecție este o boală a adolescentului și adultului care se contaminează masiv și repetat. Accesul BK în pulmon ca urmare a unor defecte de apărare locală (cap. XII, B), sau la persoane anergice *, poate fi urmat de înmulțire locală masivă a BK. În organismul anergic, lipsit de apărare celulară, delimitarea nefiind posibilă, însămînțarea și eliberarea de tuberculină sînt masive. În cazuri de anergie temporară, restabilirea stării de reactivitate imunologică face ca reacția celulară de mobilizare și proliferare la nivelul focarului infecțios constituit să fie masivă dînd *infiltratul tuberculos*, vizibil radiologic, cu multiple posibilități de evoluție:

— vindecare *ad integrum* sau cu calcificare,

— necrozare centrală (cavernă), datorită anoxiei nocivă celulelor aglomerate în focar; astfel de focare se pot uneori fibroza, scleroza, calcifica treptat (vindecare), sau evida, dînd

— caverna, care se poate deschide într-o bronhie, ceea ce creează multiple posibilități de însămînțare a întregului lob, pulmon, sau ambilor pulmoni, (*tuberculoza pneumonică*). Deschiderea cavernei realizează în plus condiții de aerobioză foarte favorabile înmulțirii extracelulare a bacililor în produsul cazeos și duce la expulzarea de BK prin tuse, vorbire, ,,sputa baciliferă'', sursă de contaminare a anturajului (milioane de BK pe zi). Alteori, procesul de necroză duce la deschideri de vase, avînd ca urmare hemoptizia, uneori moarte prin sufocare, creează posibilități de însămînțare hematogenă, cauză a *granuliei tuberculoase* sau *TBC miliară.*

Posibilități de localizare a infecției tuberculoase; în afară de tuberculoza pulmonară, cea mai frecventă, alte localizări, *TBC extrapulmonară*, sînt posibile:

— meningită tuberculoasă, cea mai gravă;
— tuberculoza renală;
— tuberculoza cutanată (,,lupus vulgaris'', TBC vegetantă etc.);
— tuberculoză gangliocervicală (,,scrofula'');
— tuberculoză intestinală (adenopatie mezenterică);

---

* Anergia sau lipsa de reactivitate imunologică poate fi temporară ca urmare a unor infecții (rujeolă, gripă, hepatită virală), stări fiziologice speciale (sarcină, bătrînețe), cauze de iritație locală cronică (pneumoconioze) etc.

— tuberculoza seroaselor (artrită, pleurezie, peritonită);
— tuberculoză osoasă; vertebrală, cu cifoză (morb *Pott*); osteite, diverse localizări;
— tuberculoză genitală, a cervixului etc.

Multe din tuberculozele extrapulmonare sînt generate de însămînțări secundare, pe cale limfatică, hematică, prin contiguitate, iar altele sînt manifestări la poarta de intrare (cutanată, genitală).

MYCOBACTERIOZELE

Cele mai frecvente micobacterioze sînt (1) boli ulcero-cazeose pulmonare cronice la adult, date mai ales de *M. kansasii*, (2) ganglionare la copil, date în special de *M. scrofulaceum*, mai rar de *M. battey*, *fortuitum*, și (3) ulcere cutanate date de *M. marinum* și *M. ulcerans*.

Mycobateriile atipice sînt bacterii condiționat patogene, cu potențial scăzut de patogenitate, dar care, pătrunzînd pe o cale deficitară în ceea ce privește apărarea antiinfecțioasă, se pot grefa în organism dînd infecții cu evoluții cronice asemănătoare TBC.

Infecțiile bronhopulmonare apar în special la bolnavii expuși riscului pneumoconiotic, în pneumonii de deglutiție, traumatisme, viață în atmosferă cu praf etc. Observațiile clinice au fost demonstrate experimental, arătîndu-se influența agravantă a inhalării prafului asupra infecției cobaiului cu aceste bacterii.

Micobacteriozele ganglionare au fost puse în evidență cel mai adesea la copii pînă la 4 ani, ca adenite cervicale sau submaxilare. *M. scrofulaceum* ar da adenite cervico-faciale, chiar mai des decît *M. tuberculosis*.

La adult, cît și la copil, atît evoluția clinică, tabloul histologic, cît și tabloul radiologic, nu diferențiază micobacteriozele de tuberculoza propriu-zisă. Această diferențiere foarte importantă pentru tratament (*M. „atipice”* sînt natural rezistente la PAS, HIN, S) se face numai bacteriologic.

DIAGNOSTICUL TUBERCULOZEI

În baza diagnosticului bacteriologic este organizată întreaga profilaxie antituberculoasă ca și tratamentul infecției.

Produsul de cercetat variază în raport cu localizarea tuberculozei: *spută* în TBC pulmonară (la copilul mic și bolnavi care nu expectorează, se recoltează *lichid de spălătură gastrică* și, chiar, *materii fecale*); *cazeum* în abces rece; LCR, în meningita TBC; *urină*, în TBC renală; *lichid din seroase*, în pleurezii, artrite, peritonite; *sînge menstrual*, recoltat cu pesare, *mucoasă de endometru* recoltată prin chiuretaj bioptic, în TBC genitală.

Examenul microscopic. Frotiul de spută, sau puroi, colorat Ziehl-Neelsen este cea mai valoroasă și totodată cea mai ieftină metodă de depistare a TBC pulmonare osoasă etc. În schimb, prezența de bacili AAR în frotiul din sediment de urină, eventual în omogenizat de materii fecale, nu permite diagnosticul de tuberculoză, avînd în vedere prezența frecventă a *M. smegmatis*, *M. gastri* etc. pe uretra anterioară și în colon; însămînțarea este obligatorie.

Inocularea la cobai este un test foarte sensibil pentru diagnosticul de infecție tuberculoasă propriu-zisă, dată de *M. tuberculosis* și *M. bovis*; se ține seama de faptul că *M. „atipice"* nu sînt patogene pentru cobai. Reproducerea bolii la cobai trebuie urmată de *însămînțare și izolare pe medii de cultură* pentru efectuarea antibiogramei.

Însămînțarea directă a produselor patologice pe medii de cultură are mai multe avantaje:

— permite evidențierea infecției indiferent de specia infectantă, patogen clasic *(M. tuberculosis, M. bovis)* sau o micobacterie „atipică";

— permite metode de identificare a tulpinii izolate (biochimice, patogenitate, de cultivare);

— permite mai ales efectuarea antibiogramei, esențială pentru tratament, datorită variațiilor de sensibilitate la antibiotice; mai mult, din produsele cu mare densitate de BK (spute cu cel puțin 1 bacil pe cîmp microscopic, în frotiu) a fost pusă la punct *efectuarea antibiogramei pe cultură primară* cu decelarea proporției de mutanți rezistenți la un antibiotic sau la asociații de A.

În scopul izolării, se recomandă însămînțarea unui *inoculum* cît mai mare pe cît mai multe tuburi cu mediu, eventual, atît pe mediul Loewenstein-Jensen, cît și Coletsos.

L. c. r. și lichidele din seroase sînt însămînțate extemporaneu (la patul bolnavului), înainte de a avea loc formarea fibrinei care antrenează bacilii, depunîndu-i pe pereții tubului. Măsura este obligatorie mai ales pentru lichidele recoltate în cantități mici (l. c. r., lichid articular); este preferabil ca acestea să fie însămînțate și inoculate în totalitate, deoarece frotiul direct dă rareori rezultate pozitive.

Produsele contaminate cu flora cavităților naturale de evacuare necesită metode de omogenizare și decontaminare (cu NaOH 4%, lauril sulfat de Na 4%), ca și metode de concentrare (centrifugare) a bacililor infectanți.

Identificarea speciei. TBC, fiind dată în > 99% din cazuri de *M. tuberculosis* și *M. bovis*, identificarea se bazează practic pe creșterea lentă și aspectul coloniilor. Testul pentru acid nicotinic este practic suficient pentru diferențierea M. tuberculosis.

Criteriile orientative pentru diagnosticul de mycobacterie atipică:
— creștere rapidă, nepigmentat, probabil *M. fortuitum*;
— colonii pigmentate la întuneric, probabil *M. scrofulaceum, M. xenopi*;
— colonii pigmentate la lumină, cel mai frecvent *M. kanasasii*;
— colonii netede, necromogene, creștere lentă, probabil *M. avium* sau *M. intracellulare*;
— creștere rapidă și pe medii simple, geloză, saprofitul nepatogen *M. smegmatis*.

Criterii de implicare ca infectant a unei mycobacterii atipice:
— existența unei leziuni tipice;
— izolarea repetată a aceleiași bacterii de la bolnav.
— excluderea existenței unei mycobacterii patogene *M. tuberculosis M. bovis*.

SENSIBILITATE LA A. ŞI CH. TERAPIE

Mycobacteriile sînt natural sensibile la o categorie mare de Ch. şi A. numite antituberculoase (tabel 75). Cele mai multe sînt însă prea toxice* în terapiile de lungă durată necesare în TBC (3—6—12 luni) şi în cantităţile necesare pentru a asigura efect cid şi penetraţie în macrofag, mycobacteriile fiind *prototipul bacteriilor facultativ intracelulare*. S-au selectat ca cele mai valoroase A. şi Ch., numite majore:

HIN, bună penetrabilitate în M, cid, bine suportat în cantităţile maxime recomandate (10 mg/kg/zi);

ethambutol, penetrant în leziuni şi în M., bine suportat în doze ce nu depăşesc 50 mg/kg/zi; doze peste 100 mg/kg dau nevrite optice (eliminarea este renală);

rifampicina (rifadin), bună penetraţie în M, cid în doze maximale (600 mg/zi); f. bine suportat (eliminare sub formă activă prin bilă, dă unele accidente hepatice); nu dă rezistenţă încrucişată;

streptomicina, cid (cel mai vechi A. anti-TBC), nu pătrunde în celulă;

PAS este un tuberculostatic; (folosit în asociaţii cu A. cide, active în fază metabolică, se pune problema dacă nu le reduce sau chiar anulează acţiunea).

Tabelul 75

Antibiotice şi chimioterapice antituberculoase

Antibiotice	Chimioterapice
Rifampicina (Rifadin),	HIN (izoniazid, hidrazida acidului izonicotinic),
Streptomicina,	Ethambutol,
Cycloserina (Oxamicina),	Ethionamida (Nizotin),
Viomicina,	PAS (acid paraaminosalicilic) *,
Kanamicina,	Pyrazinamida,
Paromomicina,	Thiosemicarbazona,
Neomicina,	Thioacetazon.
Capreomicina,	
Gentamicina.	

* Spre deosebire de *M. tuberculosis* şi *M. bovis*, majoritatea mycobacteriilor atipice sînt natural rezistente la HIN, PAS, streptomicină.

Rezistenţa dobîndită a mycobacteriilor. Sub influenţa terapiei are loc un proces de selecţie a mutanţilor (cu diferite grade de rezistenţă, înaltă-joasă, CMC variabilă), de ex.:

(i) Din statistica lui *Hobby* şi colab., pe 3 183 tulpini izolate între 1965—1969, privind rezistenţa (R) primară (determinată înainte de începerea terapiei), reiese că:

1,1% tulpini BK sînt R la streptomicine,
4,2% tulpini BK sînt R la HIN,
7,2% tulpini BK sînt R la PAS,
0,4% tulpini BK sînt R la rifadin,
15,8% tulpini BK sînt R la ethambutol.

(ii) Pe de altă parte, este stabilit că monoterapiile duc în 3—6 luni la

60—90% rezistenţă la HIN, PAS, S, rifadin;
60—100% rezistenţă la etionamidă, pirazinamidă, kanamicină;
50% pentru viomicina, cicloserină şi, mai redusă, pentru ethambutol *(Path. Organisms and Inf. Dis., Ciba-Geigy,* 1971*)*.

Pentru HIN şi rifadin, cu cel mai bun coeficient terapeutic, doza toxică este de numai 2—4 ori mai mare decît cea terapeutică.

(iii) Majoritatea mycobacteriilor comensale condiţionat patogene sînt natural rezistente la A. clasice, PAS, HIN, streptomicină.

Diferenţele mari între procentele de rezistenţă primară şi postmonoterapie justifică elocvent necesitatea terapiei cu asociaţii de A. şi Ch., a folosirii antibiogramei pe cultură primară (ACP) şi (foarte important pentru viitorul A. şi Ch. anti-TBC) interzicerea lor în alte terapii (gonococii, şi mai ales folosirea fără motiv bacteriologic), ceea ce are ca rezultat atît mascarea tuberculozei, uneori, şi, continuu, selectarea de mycobacterii tot mai rezistente.

Terapia se face cu asociaţii de 2—3 droguri în doze suficient de mari. Există însă falsa părere că ,,asociaţii standard'' a celor mai bune şi noi preparate sînt obligatoriu şi cele mai eficiente. Această logică generalizată în terapia TBC duce la rezultate ca cele relatate mai sus : procentul de rezistenţă primară la ethambutol, cel mai nou Ch, este şi cel mai mare (bacilul Koch nu se dezminte privind existenţa mutanţilor R şi rapiditatea cu care aceştia se selectează).

La bolnavi contagioşi, alegerea corectă a asociaţiilor eficiente se poate face prin efectuarea ACP cantitativ (determinarea procentului de mutanţi rezistenţi la fiecare drog şi la asociaţiile standard). Această practică permite folosirea cu eficienţă terapeutică şi a drogurilor clasice, mult mai economice*. După cum scrie *Taquet*, în 1969 ,,*Gravitatea deosebită a acestor infecţii justifică o orientare terapeutică minuţios ghidată prin antibiograme repetate*''.

Asociaţiile standard sînt promovate, fiind unica soluţie, pentru (i) terapii de urgenţă *(meningite TBC)*, (ii) tuberculoze ,,închise'' confirmate radiologic *(morb Pott, infiltrat pulmonar* etc.) şi (iii) pentru regiuni lipsite de laborator şi specialişti de laborator.

Corticosteroizi. Boala tuberculoasă fiind mai ales boală de sensibilizare, corticoterapia este tot mai folosită ; ea scade inflamaţia interstiţială asigurînd schimburile gazoase, reduce inflamaţia pleurală şi pericardică şi blocul intratecal în meningita TBC ; totdeauna cu terapie antibacteriană.

În conceptul actual, terapia nu necesită spitalizare ; aceasta rămîne necesară cazurilor chirurgicale şi ca metodă de profilaxie colectivă, prin izolarea bolnavilor care elimină BK, pînă la ,,negativarea'' sputei prin terapia cu A şi Ch.

PROFILAXIE

Metodele nespecifice sînt cele mai eficiente, ele urmăresc :

(i) reducerea sursei de BK prin depistare bacteriologică sistematică a bolnavilor contagioşi şi tratarea lor ;

(ii) reducerea rezervorului de BK din mediul extern, prin educaţia bolnavilor, în special, şi a populaţiei, în general :

— generalizarea folosirii batistei de hîrtie care apoi se incinerează ;

— folosirea scuipătorii cu dezinfectant pentru bolnavi de TBC pulmonară ;

---

* După *Sors* (1976), între HIN şi rifampicin, diferenţa de cost este de 1 la 250.

— educație privind evitarea transformării sputei în praf* ; populația trebuie să fie avertizată de faptul că sputa ajunsă pe sol se transformă în praf și este inhalată odată cu bacilii tuberculozei care sînt foarte rezistenți la uscăciune ; sînt descrise cazuri de tuberculoze la copiii din jurul bunicului ,,tușitor'', a bătrînului simpatic din cartier cu spută baciliferă.

(iii) Eradicarea TBC bovine prin sacrificarea animalelor bolnave duce la eradicarea TBC umane de origine bovină ; dar, omul cu spută baciliferă poate contamina animale, vaci de lapte, care pot face mastita și devin sursă de *M. tuberculosis*.

Vaccinarea cu BCG, vaccin viu, cu virulență atenuată. Cu cît riscul de contaminare este mai mare, cu atît vaccinul este administrat mai precoce, în primele zile după naștere. Deoarece este un vaccin viu (care dă microinfecții) este administrat numai la nou-născuți bine dezvoltați, care au atins greutatea de 3 kg. Aproximativ 80% din sugari se imunizează după prima doză, ceea ce se poate constata prin pozitivarea reacției la tuberculină, care demonstrează că s-a instalat IMC ; la copiii cu reacție negativă, se repetă vaccinarea. În acest scop, testul la tuberculină se practică sistematic la toți copiii de 3, 7, 14 ani.

Testul la tuberculină pentru depistarea susceptibililor la tuberculoză : se folosește o tuberculină purificată, PPD (proteină purificată derivată din tuberculina brută).

Se injectează strict intradermic 1—2 unități test (UT)** în volum de 0,1 ml pe fața anterioară a antebrațului. Citirea se face după 72 ore (este prototipul testelor pentru sensibilizarea de tip celular : începe să apară după 7—8 ore, atinge maximum la 48—72 ore și dispare cam în 7 zile). Reacția pozitivă se traduce prin indurație locală de minimum 9 mm Ø, eritem (mai rar flictenă, necroză, ulcerație).

La persoanele neimunizate, reacția este negativă. Pentru a confirma rezultatul negativ, înainte de a decide revaccinarea, se repetă i. d. r. cu 10 UT/0,1 ml, la 15 zile de la prima testare. Dacă și această reacție este negativă, se face revaccinarea cu BCG.

O reacție intensă la tuberculină indică necesitatea unui examen clinic, radiologic și bacteriologic, deoarece poate apărea în cursul unei infecții TBC în plină evoluție. Durata imunizării cu BCG se evaluează la 5—10 ani ; în acest interval, reacția se poate intensifica, ceea ce demonstrează că mici infecții naturale evoluează inaparent și întăresc imunitatea căpătată artificial.

În țări în care vaccinarea cu BCG nu este obligatorie, rezervorul de infecție fiind considerat scăzut, aproximativ 4% din copii devin totuși tuberculino-pozitivi pînă la vîrsta de 6 ani, 21% pînă la 13 ani, 57% pînă la vîrsta de tînăr adult.

---

* Pe trotuarul unei străzi centrale a orașului sediu al OMS, stă scris de decenii, încrustat în asflat, ,,*Ne crachez pas sur les trottoires*''.

** UT = cantitatea de tuberculină care injectată strict intradermic, în volum de 0,1 ml, determină la persoane imunizate antituberculos o reacție pozitivă strict locală.

2. MYCOBACTERIUM LEPRAE
(bacilul lui Hansen, 1873)

Bacilul leprei a fost descris de norvegianul *Hansen*, iar, după cum spune *Moşcovski*, în lepră *V. Babeş* a avut unele dintre cele mai mari realizări ale sale: el a descris primul interrelaţia microb-organism, studiind reacţiile morfopatologice faţă de leprină şi tuberculină; a descoperit proprietatea serului de lepros de a fixa complementul în prezenţa a variate antigene (numind-o polifixare); *Babeş* a scris prima mare monografie despre lepră „*Die Lepra*" în 1901; merite care i-au fost recunoscute prin alegerea sa ca membru în Comitetul Congresului Internaţional asupra leprei de la Bergen, 1909 *(D. P. Bădoi 1969)*.

Lepra este cunoscută din antichitate, cînd era mult mai răspîndită; în evul mediu în Europa era încă multă lepră. În prezent, este *endemică* în ţările tropicale şi subtropicale din sudul Asiei (6,5 milioane de bolnavi), Africa (3,5 milioane), în cele două Americi (350 000 cazuri), fără ca să lipsească în Europa (50 000, din care aproximativ 1 000 bolnavi în Londra, aproximativ 100 de cazuri în ţara noastră); cifra raportată pînă în 1973, pe glob, era de aproximativ 11 000 000, din care 4 000 000 cu infirmităţi; circa 100 000 cazuri noi, anual.

Morfologie, colorabilitate: bacili drepţi de 1—8/0,3—0,5 μm; în frotiuri din produsele patologice apar atît extra- cît şi intracelular; în lepra lepromatoasă apar frecvent în „globi", grămezi, datorate înmulţirii masive intracelulare, în care bacilii sînt paraleli (fig. 127); sînt foarte acido-alcoolorezistenţi (se colorează în roşu intens cu coloraţia Ziehl-Neelsen).

Cultivarea. *M. leprae* este o bacterie strict parazită a omului, care nu a putut fi cultivat pe medii artificiale şi nici pe culturi de celule (pînă în prezent). O înmulţire a bacililor poate fi obţinută prin inocularea produsului patologic în plantă la şoarece (numărul bacililor creşte pînă la 1 000 x), obţinîndu-se pînă la 10^6 bacili într-o plantă*; inocularea în planta de şoarece permite şi 2—4 pasaje, în serie. O înmulţire mai activă se obţine pe rozătorul dungat *tatu*. Suprimarea reactivităţii imunologice are ca efect creşterea multiplicării *M. leprae* în plantă la şoarece, ca şi obţinerea infecţiei la hamster. Aceste metode au deja aplicaţii practice:

- selectarea preliminară a noilor medicamente antileproase;
- determinarea tulpinilor rezistente la DDS;
- prepararea de lepromin;
- experimentarea vaccinării cu BCG. în prevenirea leprei (v. cap. XV, C, 2).

Multiplicarea bacililor este inhibată de medicamente eficiente ca şi de vaccinarea prealabilă cu BCG.

Habitat, contaminare, infecţie. Bacilul *Hansen* este parazit strict şi exclusiv al omului infectat şi bacterie facultativ intracelulară. Lepra tuberculoidă nu este contagioasă; singura sursă de contaminare este bolnavul cu lepră cu leziuni deschise, lepromatoasă, principalul produs de difuzare a bacililor fiind *mucusul nazal*.

---

* Înmulţirea bacililor *Hansen* în planta de şoarece şi cobai a fost constatată de *A. Toma*, *C. Constantinescu* şi *E. Duca* în 1948—1950 (experimentări nepublicate).

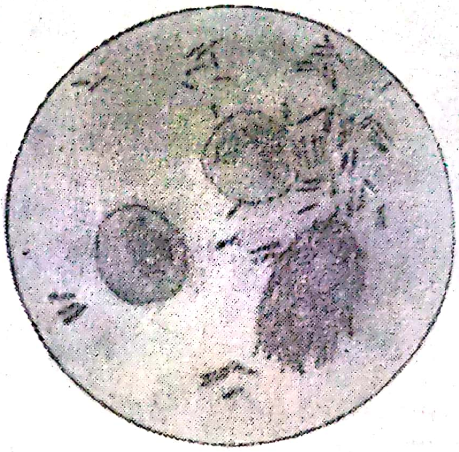


Fig. 127 : Mycobacterium leprae.

Contaminarea necesită un contact prelungit cu bolnav contagios, favorizat de aglomerație în locuințe, deficiențe privind condițiile de igienă. Chiar în aceste condiții, boala apare la un număr mic din cei care coabitează. Riscul cel mai mare de infectare ar fi pentru copii sub 5 ani.

Incubația este foarte lungă, 3—5 ani, ceea ce demonstrează o virulență redusă a bacteriei.

Poarta de intrare pare să fie mucoasa nazofaringolaringiană, lezată, unde apar primele *leziuni ulcerative* în care bacilul *Hansen* poate fi pus în evidență, în frotiu, cel mai precoce. Bacilii de contaminare sînt fagocitați de PN și macrofage, în care se înmulțesc în număr mare dînd aspectele caracteristice de ,,globi'' (celule burate cu bacili-AAR), și care-i mobilizează în organism.

Lepra îmbracă manifestări clinice variate, cele mai tipice fiind *lepra tuberculoidă* și *lepromatoasă*, între aceste prototipuri încadrîndu-se forme intermediare :

Lepra tuberculoidă (LT), închisă, necontagioasă, cu tropism cutanat şi nervos mai ales; este caracterizată prin nodulii leproşi, leziuni infiltrative delimitate, fără supuraţii şi fără cazeificare, care se dezvoltă de predilecţie în *derm, mucoase*, pe *conjunctiva oculară*, de-a *lungul traiectelor nervoase*, în *ganglioni*, dar şi în diferite organe; astfel, bacili *Hansen* au fost puşi în evidenţă în pulmon, ficat, splină, rinichi, testicule, sînge. Leziunile cutanate încep ca *macule* plate decolorate (care apar la început mai ales pe faţă, spate, fese, fig. 128), apoi *papule, noduli*. Evoluţia are loc în 8—10 ani.

Leziunile nervoase încep cu formare perinervoasă de noduli infiltrativi, îngroşarea traiectelor nervoase, fenomene de compresie care duc la tulburări de sensibilitate (hipoestezii-anestezii), paralizii motorii, tulburări trofice : ulcere torpide ale extremităţilor, atrofii osoase la extremităţi. Evoluţia este lentă, 18—40 de ani.

Lepra lepromatoasă (LL) evoluează la indivizi cu IMC deteriorată. Semnele precoce sînt *nodulii infiltrativi* la faţă, lobulii urechilor, membre, *placarde infiltrative* pe trunchi, *rinită muco-purulentă* (uneori căderea părului din partea distală a sprîncenelor), care evoluează spre ulceraţii cu număr mare de bacili ce se înmulţesc liber (neinterferaţi de IMC, singura eficienţă în lepră), (fig. 129).

Drutz și colab. (1972) demonstrează la 25 din 32 cazuri studiate, bacteriemie fără semne clinice, cu prezența bacililor AAR în frotiuri de sînge periferic (pînă la 10 bacili/ml), atît extracelulari cît și intracelular (2—3 în PN și 1—10 în M) ; de asemenea, prezența *M. leprae* în pereții vaselor mici din derm ; în sîngele din lobulii urechii, numărul de bacili în M este mare, (10^{11} *M. leprae* în organism).

LL este forma *contagioasă* ; de aceea, depistarea în faza inițială permite (i) atît terapie precoce și astfel eficientă, ca și (ii) limitarea perioadei de contagiozitate, cea mai importantă măsură profilactică.

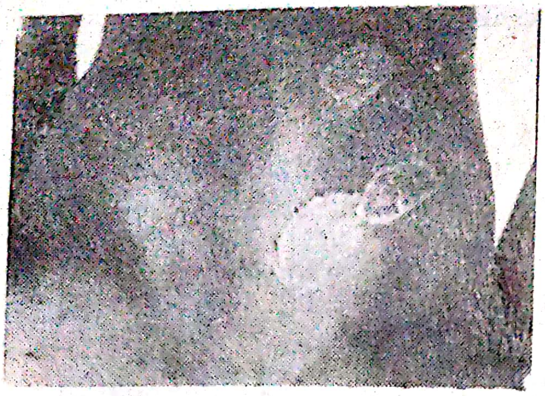


Fig. 128: Lepră tuberculoidă („Santé du Monde", OMS, ← Oct. 1791).

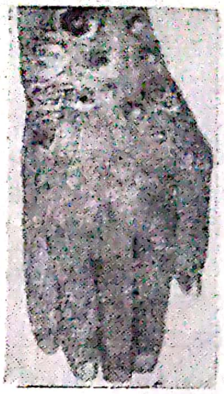


Fig. 129: Lepră lepromatoasă. Antebrațul și mîna prezintă leproame în diferite stadii de evoluție unele cu ulcere mari acoperite de cruste. (*N Kalindero* și *Victor Babeș* : „La lèpre en Roumanie", 1888, Analele Institutului de Patologie și Bacteriologie, vol 1, publicate de V. Babeș). →

Fig. 128

Fig. 129

Imunitate și imunopatologie. Ca și în TBC, manifestările în lepră sînt dependente de reactivitatea imunologică : *lepra tuberculoidă* evoluează la indivizi infectați dar cu o bună reactivitate imunologică mediată de celule, în timp ce *lepra lepromatoasă* evoluează la indivizi deficitari din acest punct de vedere (tabel 76).

Tabelul 76

Reactivitatea imunologică la indivizi cu lepră lepromatoasă și tuberculoidă

Lepra :	lepromatoasă	tuberculoidă
Ac. umorali	++++	++
I.d.r. la lepromin	—	++++ (după 3—4 săpt.)
Ariile paracorticale ale gangl. limfatici	L* absente P** numeroase	L prezente P prezente
Prezența *M. leprae* în macrofage	++++	+
Evoluția bolii :	severă, progresivă, distructivă	auto-limitată, leziuni cutanate proliferative granulomatoase
IMC	scăzută	înalt grad de IMC

* L = limfocite ;

** P = plasmocite.

Concluzii : Imundeficiența celulară este cauza evoluției grave a bolii (L. lepromatoasă). Buna reactivitate a IMC determină localizarea agenților infectanți, evoluție benignă, pînă la sterilizare, manifestarea clinică a bolii în acest caz fiind numai infiltratul monocitar, tuberculoid.

Este demonstrat că în regiunile endemice, numeroși indivizi sînt imunizați împotriva leprei ; 80% din contacții de casă și spital prezintă i. d. r. de tip întîrziat pozitivă la *lepromin*. Aceste reacții demonstrează că lepra evoluează în aceste numeroase cazuri inaparent, determinînd imunizări și *explică numărul mic de cazuri clinice de lepră*. În adevăr, reacția la lepromin este negativă la nou-născuți în general și la persoane din regiuni indemne de lepră. Aceste date, alături de cele experimentale, au demonstrat că *imunitatea în lepră este mediată de celule* (IMC), că imunoglobulinele nu au eficiență, deși sînt prezente, și că, lepra tuberculoidă este o HSMC (hipersensibilizare mediată de celule). HSMC este o reactivitate celulară exagerată care devine clinică la un foarte mic procent din persoanele care se contaminează și se infectează, marea majoritate făcînd numai infecții inaparente, de unde reise marea eficiență a IMC în lepră.

Deficiențele de reactivitate a IMC timus-dependentă (cel mai adesea cu păstrarea capacității de sinteză a imunglobulinelor) duc la lepra gravă lepromatoasă ; la acești bolnavi, zonele paracorticale ale ggl sînt înlocuite cu celule spumoase care conțin *M. leprae (Y. L. Turck*, 1971*)*. Acest lucru este confirmat și de faptul că *reacția la lepromin este pozitivă în lepra tuberculoidă și negativă în lepra lepromatoasă* (tabel 76)). Mai mult, a fost demonstrat că animale de experiență (șoareci, hamsteri) devin susceptibile la infecția cu bacilul *Hansen*, în cazul suprimării activității limfocitelor-T prin timectomie postnatală, de exemplu.

Diagnostic de laborator. *Diagnosticul bacteriologic* este ușor în LL și dificil în LT ; se bazează pe evidențierea bacililor în produsele patologice, a „globilor", prin examen microscopic în frotiu colorat Ziehl-Neelsen. În zonele endemice, diagnosticul leprei este cel mai adesea clinic, dar valoarea diagnosticului bacteriologic constă în posibilitatea depistării precoce a bolii, aspect esențial pentru eficiența terapiei ; în zonele în care lepra este rară, reprezintă singura metodă de confirmare a bolii.

În suspiciune de lepră și la contacți, diagnosticul cel mai precoce poate fi obținut prin căutarea bacteriei în *frotiuri din mucus nazal, faringian, biopsie de mucoasă*. În aceste produse, bacilul *Hansen* poate fi găsit înainte de apariția leziunilor cutanate.

Patognomonic pentru confirmarea diagnosticului de lepră este prezența „globilor", alături de rezultatele negative obținute în însămînțările pe mediul *Loewenstein* și inocularea la cobai.

Poate fi pus de asemenea în evidență în număr mare în noduli, în ulcerații, în număr mai redus în granuloamele nervoase, mai rar în alte produse, spută, sînge. În cazul leziunilor nodulare, frotiurile se fac din serozitate obținută prin puncție, sau din biopsie (incizie, grataj).

Diagnostic serologic. Bazîndu-se pe existența de analogii antigenice între speciile întregului grup *Mycobacterium*, numeroase reacții serologice au fost încercate în lepră, folosind antigene extrase sau suspensii de mycobacterii cultivabile. Studiile de pînă acum, demonstrează în primul rînd o mare lipsă de specificitate a reacțiilor pozitive. Ceea ce pare caracteristic este doar faptul că serurile leproșilor reacționează cu cele mai multe din antigenele încercate, în 100% din cazuri cu antigene lipoidice, folosite în diagnosticul sifilisului.

Intradermoreacția la lepromin este singurul test imunologic valabil pentru diagnostic. Acest test se poate pozitiva în cazul leprei tuberculoide în 48 ore, „citire precoce", și poate persista 3—4 săptămîni, „citire tardivă" (testul *Fernandez*), considerată mai specifică ; testul este negativ în lepra lepromatoasă (în care IMC este deficitară).

Terapia. Experimentarea prin inocularea în plantă la șoareci și *tatu* permite în prezent triajul drogurilor antileproase (prin inhibarea înmulțirii *M. leprae*). S-a stabilit că efectul lent al drogurilor active se datorează: metabolismului foarte lent al *M. leprae*, durata unei generații în țesut la om fiind de 20—30 zile; bacteriostaziei care se accentuează sub influența drogurilor; poziției intracelulare a unei mari proporții de bacili.

Datele experimentale au selectat ca cele mai promițătoare, cu activități *cide*: *dapsona* sau DDS (diamino-difenil sulfona) și derivați care eliberează dapsonă în intestin sau țesuturi; *rifampicina* care negativează mucusul nazal în cîteva luni și *clofazimina* (colorant fenazinic). (*Sulfamidele retard* sînt toxice în cantitățile active, etionamida dă tulburări gastrointestinale frecvente în dozele necesare).

Medicamentul general folosit în prezent este *dapsona*; în administrare precoce și susținută duce la dispariția *M. leprae* din mucusul nazal în 3—4 luni; în LL terapia durează 4—5 ani.

Profilaxia leprei se bazează pe depistarea precoce a leprei contagioase (prin examen microscopic în frotiu de mucus nazal, serozitate din noduli-placarde, sau ulcerații, colorat Ziehl-Neelsen) și tratament; negativarea mucusului nazal se poate obține în cîteva luni, a ulcerațiilor în 4—5 ani.

Lepra tuberculoidă nu necesită izolare, iar în condițiile tratamentului corect—susținut—nici cea lepromatoasă.

Se speră că infecția la *tatu* va permite într-un viitor apropiat prepararea unui vaccin antilepră.

B. GENUL ACTINOMYCES

Conține 5 specii comensale ale mucoasei bucale la om, unele fiind prezente și la alte mamifere: *A. bovis* (dă actinomicoza bovinelor și altor mamifere, nedemonstrat patogen pentru om), *A. odontolyticus* și *A. viscosus* (prezenți în carii profunde, fac parte, mai ales *viscosus*, din placa microbiană dentară, nu dau infecții), *A. naeslundii* (rareori demonstrat în infecții la om) și *A. israelii*, agentul actinomicozei omului (tumora actinomicotică, cu evoluție cronică).

ACTINOMYCES ISRAELII

(Israel, 1855)

Habitat. Incapabil să se dezvolte în mediu extern, prezent cam la 5% din indivizii sănătoși pe mucoasa bucală și mai ales în criptele amigdaliene și subgingival.

Infecția. Pătrunderea în țesuturi este condiționată de existența de focare de necroză care asigură condiții anaerobe sau microaerofile pentru înmulțirea actinomicetului. Astfel de focare se creează uneori în plaga postextracție dentară, fracturi deschise de maxilare, cripte amigdaliene cu puroi consecutiv unor infecții cu aerobi. Mai rar, *A. israelii* pătrunde prin mucoasa intestinală ulcerată.

Odată începută proliferarea în țesut, are loc o reacție de tip inflamator granulomatos, urmată de necrozare centrală, uneori cu fistulizare la exterior, cu fibrozare, evoluție cronică a unei formațiuni tumorale.

Există, mai rar, posibilitatea localizărilor secundare, metastatice, care s-ar produce pe cale sanguină, în rinichi, pulmon, creier ; localizarea în ficat ar avea loc ca urmare a unei leziuni inițiale intestinale, de obicei apendiculară.

Cea mai frecventă localizare a actinomicozei primare ($>60\%$) este cervicofacială. Leziunea începe printr-o infiltrație în țesutul celular subcutanat, submucos, inițiată de pătrunderea și înmulțirea actinomicetelor, care se propagă prin contiguitate (din aproape în aproape), dînd la palpare senzația de consistență lemnoasă. Caracteristică este absența adenopatiei regionale. Într-un stadiu mai avansat apare supurația cu formare de abcese subcutanate care se deschid spontan, formînd fistule multiple („stropitoare"). Prin aceste fistule se elimină un puroi subțire care conține mici granulații alb-gălbui, 0,1—1 mm∅, vizibile cu ochiul liber, așa-numite „granule de sulf" — granulații actinomicotice — foarte caracteristice, care sînt de fapt colonii (micelii) de *Actinomyces*. (În stadiul de fistulizare, sînt frecvente suprainfectările cu coci piogeni, mai ales).

Edemul dur regional cervicofacial, durerea, trismusul, fistulele, lipsa adenitei și puroiul cu granule albe-gălbui sînt semne clinice caracteristice pentru diagnosticul de actinomicoză. Ar da infecții și la bovine.

Morfologie: filamente subțiri (1 μm∅), cu ramificații perpendiculare care se fragmentează prin maturare în forme bacilare scurte care, la rîndul lor, generează filamente (fig. 130).

Granulul actinomicotic din produsul patologic este o colonie, alcătuită dintr-un ghem de filamente (miceliu), compact în centru, înconjurat de ramificații cu așezare radială, printre ele fiind prezente forme bacilare (fig. 131, c). Un granul actinomicotic din produs patologic, pe secțiune, apare caracteristic, înconjurat de o coroană de formațiuni piriforme, reprezentate de mici granulații de material lipoidic, depozitat de țesutul gazdă în jurul bacteriei invadante (fig. 131). Prin îmbătrînire, centrul coloniei suferă un proces de autoliză și impregnare cu material amorf, încît devine nediferențiat morfologic.

Colorabilitate. Actinomycetele sînt grampozitiv, neacidoalcoolorezistente. Cînd este colorat Gram un granul actinomicotic din produs patologic, filamentele apar violet, iar coroana de granule piriforme lipoidice în roșu (se decolorează cu alcool-acetonă). În colorația Ziehl-Neelsen, actinomicetele apar în albastru (ne-AAR), iar granulele lipoidice în roșu (nu se decolorează printr-o decolorare mai blîndă cu acid sulfuric 1%).

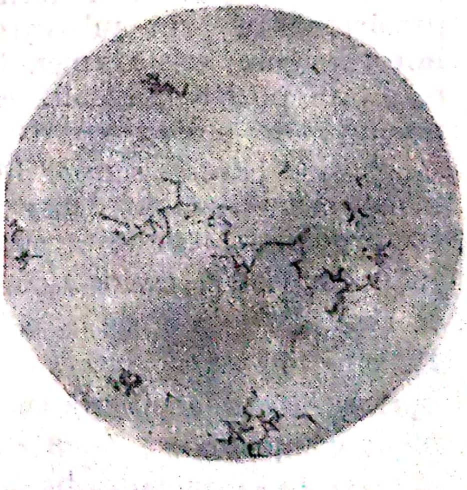


Fig. 130: *Actinomyces bovis*: frotiu din cultură pe geloză (*Topley*, 1955, p. 458).

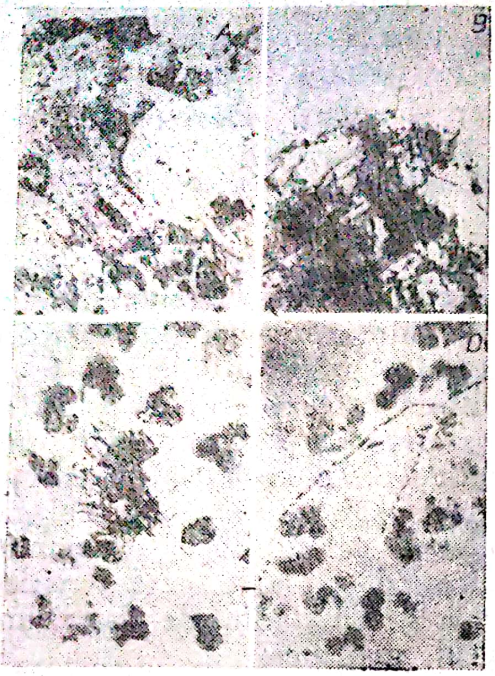


Fig. 131 : *Actinomyces israelii*, aspecte în frotiu din exsudate colorate Gram :

(A) spută expectorată de la bolnav cu actinomicoză pulmonară cavitară ; (B) granul de „sulf" sfărîmat din spută expectorată ; (C) frotiu din empiem pleural ; (D) din lichid pleural (din *Hoeprich* Edit. „Infectious Diseases", 1972)

Caractere de cultură : cultivă încet, în 3—7 zile, cel mai bine în anaerobioză sau microaerofilie cu concentrație crescută de CO_2, la 37°, pe medii compuse pe bază de infuzie de creier-inimă (geloză-sînge, -ser, -glucoză). Colonii de 0,5 — 3 mm ∅, „S" sau „R". Pe geloză-infuzie creier-inimă, microcolonii pot fi vizualizate cu mărire 100 x după 18 — 24 ore de incubare (apar ca filamente ramificate de diferite lungimi pornind dintr-un singur punct). După 14 zile coloniile devin „R" : ondulate, lobate, suprafață granulară, neregulate („mură"), alb-gălbui, nehemolitice. În medii lichide, creștere discretă în granule.

Caractere biochimice. Bacterie zaharolitică cu spectru larg : fermentează galactoza, zaharoza, glucoza, maltoza etc.

Structura antigenică. Tulpinile speciei *A. israelii* sînt omogene din punct de vedere antigenic și total diferite de specia *A. bovis* : dau reacții încrucișate la titruri mici cu *A. viscosus* și *naeslundii.*

Patogenitatea experimentală. Cultura de *A. israelii*, sau puroi nesupracontaminat din actinomicoză, inoculat intraperitoneal la hamster, șoarece, iepure, cobai, produce o infecție locală cu evoluție foarte lentă, fără generalizare, care nu omoară animalul ; sacrificat după 6 luni, în cavitatea peritoneală, pot fi puse în evidență formațiuni cu aspect tumoral granulomatos, care conțin „granulațiile actinomicotice" caracteristice.

Diagnostic de laborator. Diagnosticul bacteriologic constă în punerea în evidență a granulelor actinomicotice prin examen microscopic în produsul patologic sau prin cultivare, urmată de identificare. Deoarece, chiar în infecții sigure, atît examenul microscopic, cît și cultivarea, nu dau constant rezultate pozitive, recoltarea și examinarea produsului patologic trebuie repetată de cîteva ori.

Puroiul care se scurge din fistule este cel mai puțin indicat pentru examenul bacteriologic, deoarece „granulațiile actinomicotice" sînt puține, iar produsul este adesea supracontaminat. Se recomandă recoltarea puroiului din colecții închise (cînd acestea există). Recoltarea se face cu seringa, în condiții de asepsie sau în timpul deschiderii chirurgicale a colecțiilor. În plus, în cazul intervenției chirurgicale, după prima recoltare, plaga operatorie este acoperită cu o compresă uscată sterilă, urmată de un pansament compresiv ; a doua zi, compresa este pusă într-o cutie Petri sterilă și servește examenului bacteriologic ; șansele unui rezultat pozitiv sînt mai mari datorită granulelor actinomicotice mobilizate din plagă în decurs de 24 de ore.

Fragmentul de ţesut recoltat prin puncţie bioptică sau în timpul operaţiei va interesa, pe cît posibil, zona de inflamaţie activă a tumorii; se vor evita zonele scleroase modificate de infecţia secundară, în care actinomicetele sînt practic totdeauna absente.

Puroiul întins pe suprafaţa unei cutii Petri permite un examen macroscopic, granulaţiile actinomicotice putînd fi văzute cu ochiul liber, lupă, şi recoltate cu ansa sau pipeta.

Pentru examen microscopic, granulaţiile sînt strivite între două lame de sticlă, uscate, fixate şi colorate apoi prin metoda Gram. O concentrare a granulelor actinomicotice se poate obţine prin spălarea repetată a puroiului cu apă, în eprubeta de recoltare, şi sedimentare prin uşoară centrifugare; sedimentul cules cu pipeta permite atît însămînţare cît şi preparare de frotiuri, cu mai multe şanse de obţinere a rezultatului pozitiv.

Din biopsii se prepară secţiuni histologice care se colorează, de asemenea, prin metoda Gram, sau Ziehl-Neelsen.

Identificarea actinomicetelor izolate pe medii de cultură se face pe baza caracterelor descrise.

Sensibilitatea la A şi Ch: *A. israelii* este sensibil la penicilină, cefalosporină, eritromicine, lincomicină, tetracicline, cloramfenicol; penicilina este de elecţie în terapie; eficienţa lor este redusă datorită accesului dificil în tumora delimitată de reacţia organismului (fibrozare, sclerozare).

Profilaxie: igiena riguroasă a gurii.

C. GENUL NOCARDIA

Din numeroasele specii ale genului *Nocardia*, saprofite în mediul extern unele sînt capabile să determine infecţii cînd, accidental, ajung la ţesuturi prin diferite soluţii de continuitate. Produc leziuni granulomatoase cu tendinţă la supuraţie, fistulizare-ulcerare, asemănătoare actinomicozelor: uneori infecţii pulmonare cu diseminare hematogenă dînd localizări în creier; letalitate mare.

Infecţia este lentă şi ca urmare, agravată prin puternica reacţie de sensibilizare de tip celular.

Speciile identificate în astfel de infecţii la om sînt *Nocardia brasiliensis*, izolată din formaţiuni tumorale cronice, *N. asteroides*, *N. transvalensis* (izolat din micetoame ale piciorului în Africa de Sud).

Pot fi puse în evidenţă macroscopic ca granulaţii galben-portocalii în frotiuri de spută, puroi, l. c. r., ca filamente ramificate acidoalcoolorezistente; cresc aerob; sînt patogene pentru animale de experienţă (tabel 77).

Sensibile la A. cu spectru larg şi sulfamide, rezistente la penicilină.

Tabelut 77

Caractere de diferenţiere a speciilor patogene *Actinomyces* şi *Nocardia*

		Actinomyces	*Nocardia*
Coloraţia granulelor		alb-gălbui	galben portocaliu
Cultivare		anaerobă	aerobă
Coloraţia Ziehl-Neelsen		—	+
Coloraţia Gram		+	+
Zaharoliză	dextroză	+	—
	zaharoză	+	—
	maltoză	+	—
	lactoză	+	—

BIBLIOGRAFIE

1. BABES V.: *Die Lepra.* 1901
2. BASSET A.: La lèpre en France en 1976. *Concours Med.*, 98, 40, 1976.
3. DRUTZ D. J. et all.: The continuous bacteremia of lepromatous leprosy. *N. Engl. J. Med.*, *287*, 4, 159—14, 1972.
4. GELZER J., LOUSTALAT P.: Rifampicina for tuberculosis only? *Lancet*, 7 960, 1976.
5. HOBBY G. L., JOHNSON P. M., PAPIRNYK V. B.: Primary drug resistance: a continuing study of drug resistance in tuberculosis in a veteran population within the United States. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 102, 347—355, 1970.
6. LIU I. P. et all.: Comparison of three culture media for isolation of *Myco*bacterium tuberculosis: a 6-year study. *Appl. Microbiol.*, *26*, 6, p. 880, 1973.
7. MISCH K. A. et all.: Tuberculosis of the cervix: Cytology as an aid to diagnosis. *J. Clin. Path.*, 29, 313—316, 1976.
8. MITCHISON D. A.: Bacteriological aspects of mycobaterial infections. *Brit. Med., J.*, *1*, 5 747, 424—425, 1972.
9. MUROHASHI T., YOSHIDA K.: An attempt to culture *M. leprae* in cell-free semisynthetic soft agar media. *Bull. OMS*, *47*, 2, p. 195, 1972.
10. SORS C.: Traitement actuel de la tuberculose. *M. P.*, mai 2, 53—56, 1976.
11. SPRINGETT V. H.: Tuberculosis. Epidemiology in England and Wales. *Brit. Med. J.*, *1*, 5 797, 422—423, 1972.
12. TEN DAM H. G. et all.: Present knowledge of immunisation against tuberculosis. *Bull. OMS*, 54, 255—269, 1976.
13. TISSEUIL J.: Pour une prévention efficace de la lèpre. *Nouv. Presse Med.*, *3*, 24, p. 1 570, 1974.
14. TIMOŞCA S., PETREANU V., COMAN G.. GEORGESCU M:, IANOPOL J.: Unele aspecte actuale ale diagnosticului bacteriologic în infecţiile bronhopulmonare cu micobacterii condiţionat patogene. *Rev. Med. Chir.*, Iaşi, 1, 95—102, 1972.
15. TIMOSCA S., COMAN G., PETREANU V., GEORGESCU M., BĂLTEANU E.: Acţiunea „in vitro" a asociaţiei de tuberculostatice asupra tulpinilor de micobacterii cu rezistenţă multiplă, *Rev. Med. Chir.*, Iaşi, 1, 49—53, 1975.
16. VALLISHAYEE R. S. et all.: Tuberculin sensitivity and skin lesions in children after vaccination with 11 different BCG strains. *Bull. OMS*, *51*, 489—494, 1974.
17. VIALLIER J., JOUBERT L.: Tuberculose et mycobacterioses de l'animal à l'homme. *Lyon Méd.*, nr. 19, 1974.
18. WHITTAKER J. A. et all.: Granuloma formation in patients receiving BCG immunotherapy. *J. Clin. Path.*, 29, 693—697, 1976.
19. WIEGESHAUS E. H. et all.: Host-parasite relationships in experimental airborne tuberculosis. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 102, 422—429, 1970.
20. * * *: No beds for T. B. 25 facts about tuberculosis. *OMS Features*, 5, 1973.
21. * * * :Lutte antituberculeuse: évolution de la nouvelle stratégie. *Chronique OMS*, *29*, 4, p. 136, 1974.
22. * * *: Recommandations des groupes OMS d'experts de la tuberculose: évaluation. *Chronique OMS*, 28, 495—503, 1974.
23. * * *: Comité OMS d'experts de la tuberculose. *Ser. Rapp. techn.*, 552, 1974.
24. * * *: Short-course chemotherapy in pulmonary tuberculosis. *Lancet*, 7 899, p. 119, 1975.

25. * * * Lutte antituberculeuse: évolution de la nouvelle stratégie. *Chronique OMS, 29* 4, p. 136, 1975.
26. * * * Experimental chemotherapy in leprosy. Bull. OMS, 54, 235–244, 1976.
27. * * * His famous leprosarium dying of success. *Time,* sept. 19, p. 58, 1977.
28. * * * Comité OMS d'experts de la lèpre. Cinquième rapport OMS. *Ser. Rapp. tehn.,* 607, 1977.
29. * * * Leprosy control. Review of technical cooperation and the available funds. *WHO Chronicle, 31,* 12, 506–511, 1977.
30. * * * Tuberculose: combien de malades? *Chronique OMS, 31,* 7, p. 303 şi 311, 1977.
31. * * * Tuberculosis. W. H. O. *Wkly Epidem. Rec.,* 1976 (nr. 14, 29); 1977 (nr. 35, 50).
32. * * * Leprosy surveillance. W. H. O. *Wkly Epidem. Rec.* 1977 (nr. 49, 50).

XXXIII. FAMILIA SPIROCHAETACEAE

Familia **Spirochaetaceae** este singura familie a ordinului **Spirochaetales**; are 5 genuri care includ toate spirochetele, bacterii filamentoase (foarte lungi şi foarte subţiri în raport cu lungimea), spiralate, flexibile şi mobile, datorită unor filamente axiale contractile aşezate între perete şi m. c. p. (v. cap. II); se diferenţiază,

spirochete mari, saprofite, nepatogene, incluse în genurile:

Spirochaeta, cu specii care trăiesc în ape (dulci, cu H_2S, de scurgere, marine), anaerobe sau facultativ anaerobe, de 5—500/0,2—0,75 μm, şi

Cristispira, cu specii comensale în tubul digestiv la moluşte, necultivabile, de 30—150/0,5—3,0 μm;

spirochete mici, de 3—20/0,1—0,5 μm, atît specii saprofite, comensale, cît şi strict parazite, încadrate în 3 genuri:

Treponema, speciile cultivabile sînt anaerobe, unele sînt necultivabile,
Borrelia, anaerobe,
Leptospira, aerobe.

A. GENUL TREPONEMA

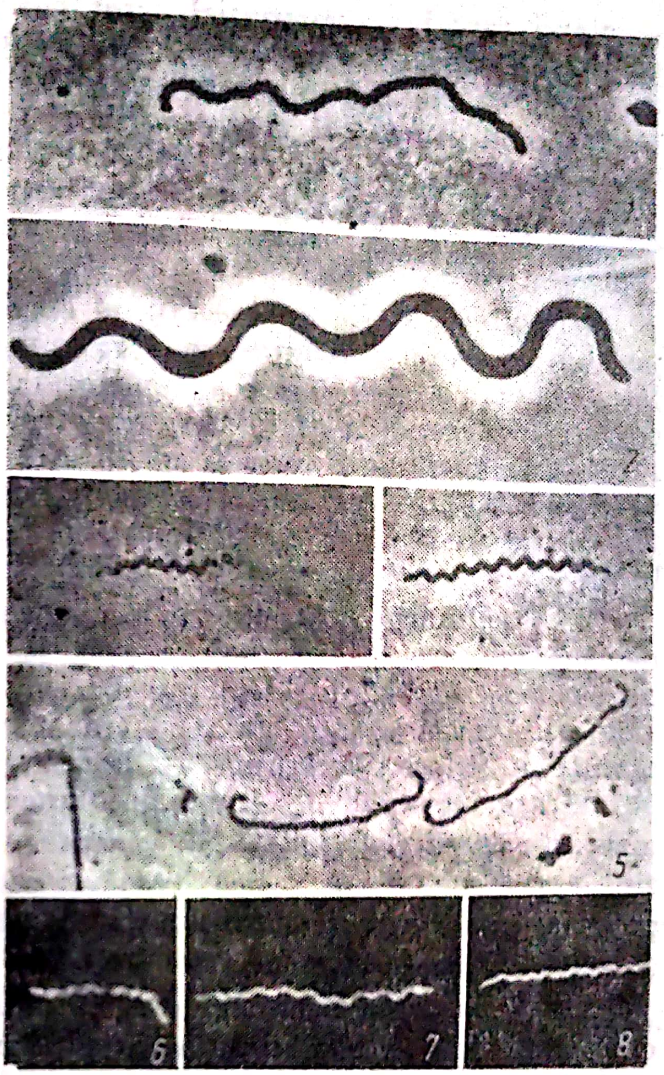
> **În ciuda faptului că există condiţiile eradicării (bacterie prezentă numai la omul bolnav şi antibiotice foarte active), sifilisul este în continuă creştere, pentru că . . . „Ei continuă să confunde relaţiile sexuale cu dragostea şi promiscuitatea cu libertatea" (*T. Guthe*; O.M.S. „*Features*", nr. 9/1971).**

Genul *Treponema* cuprinde 11 specii:

— *trei specii înalt patogene şi strict parazite numai pentru om*, aproape identice, necultivabile;
    T. pallidum, agentul **sifilisului**,
    T. pertenue, agentul bolii numită **yaws**, pian sau framboesia,
    T. carateum, agentul bolii **pinta**, şi
— *şapte specii comensale pe mucoase, la om*:
  comensale pe mucoasa TRS, cultivabile:
    T. macrodentium   *T. scoliodontum*
    T. denticola   *T. vincentii*
    T. orale
  comensale pe mucoasa genitală:
    T. phagedenis
    T. refringens (fostă *Borrelia refringens*) şi
— *o specie parazită şi patogenă pentru iepure*,
    T. paraluis-cuniculi.

Fig. 132: Spirochete:

1. *Spirochaeta plicatilis*; 2. *Cristispira californía*; 3. *Treponema pallidum*; 4. *Borrelia anserina*; 5. *Leptospira interrogans*; 6. *Treponema phagedenis*; 7. *Treponema refringens*; 8. *Treponema denticola* (1–5 fotomicrografii în contrast de fază; 6–8, microscopie pe cîmp întunecat; reprodus din *Bergey's Manual*, 1975)



1. HABITAT, CONTAMINARE, INFECȚII

TREPONEMELE ÎNALT PATOGENE PENTRU OM

T. pallidum, *T. pertenue* și *T. carateum* sînt specii strict parazite, prezente numai la omul bolnav (fără alt rezervor natural), necultivabile pe medii artificiale, identice morfologic, serologic, ca sensibilitate la A. ca infecție experimentală la maimuță; se înregistrează doar unele diferențe în ce privește patogenitatea pentru animale mici de laborator (tabel 78). Diferă prin tabloul clinic și epidemiologic al bolii umane, impus de climate, condiții fizice și ecologice diferite, în zone geografice diferite și ca posibilități de contaminare. Datorită rezistenței reduse în mediul extern, treponemele patogene se transmit numai prin contact direct.

(i) **Treponema pallidum** determină *sifilisul*, boală sporadică pe tot globul, și *bejelul*, boală endemică, limitată la anumite zone de pe glob.

Sifilisul. Peste 90% din infecțiile sifilitice au loc prin *contaminare venerică* (leziunea primară sau șancrul apare pe mucoasa și tegumentele genitale

— gland, șanț balanoprepuțial, scrot, col uterin, clitoris, labii, anus) ; *contaminări neveneriene* sînt posibile (contaminarea medicului la tușeu vaginal, rectal, „fără mănușă“ contaminarea doicii alăptînd copil cu sifilis congenital, transfuzii), *sifilisul congenital* (mama sifilitică poate contamina fătul, transplacentar, în care caz lipsește șancrul, infecția fiind de la început generalizată). Există și posibilitatea transmiterii prin contact mediat, prin obiecte de uz intim, pahar, folosite în interval de o jumătate de oră după contaminare.

Bejelul este sifilis nevenerian, al copilului ; mai persistă în cîteva zone pe glob ca boală endemică, în Africa, mai ales la triburi beduine, în Asia Mică, India ; (a fost eradicat în Bosnia). Transmiterea este directă, prin coabitare în condiții de locuințe aglomerate, iar contaminarea este favorizată de frecventele leziuni și iritații pe tegumente, produse de furtuni de nisip, soare ; sugarul se contaminează de la șancrul mamelonului mamei. Exceptînd modul de contaminare, manifestările clinice sînt similare sifilisului venerian ; diagnosticul de laborator și tratamentul sînt identice.

(ii) **Treponema pertenue** este agentul unei treponematoze endemice neveneriene, tropicale, numită yaws, pian sau framboesia ; există în Asia de sud-est, Africa, insulele din Pacific, regiunile tropicale ale Americii. Transmisă prin *contact direct*, spirocheta pătrunde prin soluții de continuitate, mucoase ; determină — inconstant — o leziune ulceroasă la poarta de intrare, urmată de erupția cutaneo-mucoasă granulomatoasă-papilomatoasă, zmeurie (*framboise* = zmeură) ; evoluează lent cu ulcere distructive care interesează pielea, țesuturi moi, osul (gura). Treponemele sînt prezente în leziuni și pot fi puse în evidență microscopic ; serodiagnosticul și terapia, ca în sifilis.

(iii) **Treponema carateum** este agentul unei boli neveneriene tropicale, denumită pinta, carate sau purupuru, limitată la America Centrală, Mexic, regiunea tropicală a Americii de Sud, Cuba și India (lipsește în Africa). Transmisă prin *contact direct*, dă leziuni cutanate neulcerative, în pete (*pinto* = pătat), cu modificări de culoare și hipercheratoză, cu atingeri cardio-vasculare și nervoase. Este cea mai blîndă dintre treponematozele umane. Bacteria este prezentă în leziuni și ganglioni ; diagnostic și terapie, ca în sifilis.

TREPONEME COMENSALE PE MUCOASE LA OM

Treponemele comensale, ca și alți anaerobi, fac parte din flora infecțiilor mixte, ulcero-necrozante, ale mucoaselor ; împreună cu specii *Fusobacterium* alcătuiesc frecventa *asociație fusospirochetică* a acestor infecții, ca angina numită Plaut-Vincent, stomatite, mai ales, inducînd apariție de anticorpi (v. tabel 68).

Cunoașterea aspectului acestor treponeme este necesară pentru diferențierea de *T. pallidum*, în cadrul diagnosticului microscopic direct, iar a structurii lor antigenice, pentru înțelegerea reacțiilor fals pozitive care apar în *serodiagnosticul sifilisului (SDS)* efectuat cu antigene preparate din tulpini comensale, ca *Ag. Reiter*. Treponemele comensale diferă esenţial de cele patogene deoarece sînt cultivabile (cresc pe medii artificiale, ca geloză cu ser inactivat de animal şi extract de drojdie, cu *p*H 7, în anaerobioză, la 37°C). În general, sînt mai rigide şi mai groase decît *T. pallidum* (tabel 78; fig. 132).

T. phagedenis, regulat spiralată, capete ascuţite, are mişcări bruşte înainte şi înapoi, rotaţii rare şi lente; dă colonii mici de 0,5—1 mm Ø, albe, inelare, cu un centru mai dens; apar în 2—5 zile. Are un Ag proteic comun şi celorlalte specii, inclusiv *T. pallidum*. La unele tulpini selectate, ca tulpina *Reiter*, numită şi *T. reiteri*, sau tulpina *Kazan*, acest Ag specific de gen este bine reprezentat. Ca urmare, *T. reiteri* este larg folosită ca sursă de Ag pentru SDS (în lipsă de Ag specific *T. pallidum* preparat din tulpina *Nichols*, necultivabilă *in vitro*).

Antigenul treponemic *Reiter*, ca Ag cu specificitate de grup, este mai puţin specific decît antigenul treponemic *Nichols*, dar mult mai specific decît cardiolipinul ubiquitar (vezi diagnostic).

Caractere diferenţiale ale speciilor *Treponema*, în tabelul 78.

TREPONEMA PATOGENĂ PENTRU IEPURE

***Treponema paraluis-cuniculi*, specie necultivabilă, este agentul spirochetozei naturale a iepurelui la care produce infecţii ale mucoasei genitale. Cunoaşterea existenţei acestei treponeme este necesară, deoarece iepurele este animalul utilizat pentru izolarea şi întreţinerea tulpinilor de *T. pallidum* în condiţii de laborator (în scopul preparării de antigene specifice, pentru serodiagnostic), punînd probleme de diagnostic diferenţial (fig. 132).**

Tabelul 78

Genul *Treponema*, caractere diferenţiale

	Patogenitate exp: leziuni cutanate			Fermentarea carbohidraţilor					Producere de													
									acizi						alcooli							
	iepuri	hamsteri	cobai	fructoza	glucoza	lactoza	manita	sucroza	n-butiric	acetic	propionic	lactic	formic	succinic	n-propanol	n-butanol	cultivare in vitro	Ø în μg (grosime)	hidroliza amidonului	hidroliza esculinei ;	producere indol	„ H_2S
T. pallidum	+	—	—														—	0,1—0,18				
T. pertenue	+	+	—														—	,,				
T. carateum	—	—	—														—	,,				
T. paraluis-cuniculi	+	—	+															,,				
T. macrodentium	—	—	—	+	+	—	—	+		+		+	+	±			—	0,1—0,55		?	—	+
T. denticola	—	—	—	—	—	—	—	—		+		±	±	±			+	,,		+	±	+
T. orale	—	—	—	—	—	—	—	—		+	+						+	,,		?	+	+
T. scoliodontum	—	—	—	—	—	—	—	—	±	+	±						+	,,		—	—	—
T. vincentii	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+							+	0,20—0,30		—	+	+
T. phagedenis, Reiter	—	—	—	+	+	+	+	—	+	+	+				+	+	+	0,24—0,40	+	—	+	d
T. phagedenis, Kazan	—	—	—	+	+	+	+	—	+	+	+				+	+	+	,,	+	+	+	d
T. refringens	—	—	—	—	—	—	—	—		+		±	±	±			+	0,20—0,35		+	+	+

± = cantităţi mici
d = caracter inconstant

2. MORFOLOGIE ŞI EXAMINARE MICROSCOPICĂ

Grosimea redusă a treponemelor patogene $< 0{,}2\ \mu m\ \varnothing$, le plasează sub puterea de rezoluţie a microscopului optic, neputînd fi vizualizate prin metodele obişnuite de colorare; chiar cu metode de colorare prelungită (cu coloranţi tip Romanowsky-Giemsa) apar palid colorate, ,,*pallidum*". De aceea, pentru punerea în evidenţă în produsul patologic la bolnav (secreţie recoltată din şancru, ggl. regionali, plăci mucoase), se foloseşte examinarea între lamă şi lamelă *la microscop cu fond negru*, cu luminare laterală. Apar ca filamente de 6—20 μm (10—13 μm în medie), foarte subţiri (0,1—0,18 $\mu m\ \varnothing$), cu 4—14 spire strînse şi foarte regulate, cu capete efilate, mobile: mişcări graţioase de flexie (ondulatorii) şi pendulare (un capăt fix), de rotaţie şi deplasare. Mişcările de rotaţie şi deplasare sînt mai active cînd secreţia este diluată cu ser; examinare în primele 10—15 min de la recoltare.

În ţesuturi, de la făt mort cu sifilis transplacentar*, treponemele pot fi vizualizate pe secţiuni histologice, fie prin supracolorare (Romanovsky-Giemsa), fie prin impregnare argentică; foarte bune rezultate dă coloraţia Levaditi-Stroescu.

Ca structură, la m. e. (v. cap. II), *T. pallidum* se caracterizează prin filament axial format din 3 fibrile, contractile.

Treponemele comensale sînt mai groase şi se colorează mai uşor.

3. IZOLAREA ŞI ÎNTREŢINEREA T. PALLIDUM ÎN LABORATOR

Strict parazită, *T. pallidum* (ca şi celelalte treponeme patogene, *pertenue*, *carateum*, inclusiv *cuniculi*) nu este cultivabilă pe medii artificiale (au eşuat şi încercările de cultivare pe culturi de celule şi ou embrionat. Pot fi izolate numai prin inocularea produsului patologic (secreţie din şancru sifilitic, ggl. regionali, plăci mucoase) intratesticular la iepuri (lipsiţi de *T. cuniculi*); iepurele face în 7—14 zile o orhită cu înmulţire importantă a treponemei, în cultură pură. Dacă animalul nu este sacrificat, infecţia se generalizează pe cale limfatică şi persistă, latentă, toată viaţa iepurelui, treponemele fiind prezente în ggl, măduvă osoasă, splină. Tulpina poate fi întreţinută prin transmitere în serie de la animal la animal; aşa sînt păstrate tulpinile de *T. pallidum* numite *Nichols* (izolată în 1912 de *Nichols* şi *Hough* din l. c. r., de la bolnav cu paralizie generală), *Gand* şi altele.

Inocularea intratesticulară la iepure este folosită ca sursă de Ag specific pentru SDS: testul de imobilizare a treponemelor (TIT) şi testul cu anticorpi fluorescenţi, absorbiţi cu *T. reiteri* (FTA-ABS).

Prepararea suspensiei *T. pallidum*: după 8—10 zile de la inoculare, iepurele este sacrificat; testiculii recoltaţi aseptic sînt secţionaţi rapid în lamele foarte fine, introduse într-un mediu special de întreţinere (cu serumalbumină pură, bicarbonat şi piruvat de sodiu, ser foetal ultra-

---

* Numărul de *T. pallidum* în ţesuturi de făt sifilitic este atît de mare, încît primii cercetători au folosit extracte de organe pentru preparare de Ag pentru SDS.

filtrat de cal), anaerob; treponemele trec în suspensie şi rămîn viabile, morfologic tipice, mobile timp de 4—7 zile, la 25°C. Suspensia vie este folosită pentru TIT; din ea se prepară frotiuri, care pot fi păstrate şi furnizate centralizat, pentru testul FTA-ABS, ca şi extracte adsorbite pe suport inert pentru test de hemaglutinare pasivă.

4. REZISTENŢA LA FACTORI FIZICI ŞI CHIMICI

T. pallidum are rezistenţă redusă la căldură, moare în 1—2 ore la 40—41° şi rapid la 41,5—42°, proprietate care stă la baza *piretoterapiei*, utilizată în sifilisul terţiar, nervos (în care treponemele sînt greu accesibile antibioticelor, iar penicilina este puţin eficientă, deoarece treponemele, în acest stadiu, sînt puţin active metabolic şi bine sechestrate în ţesuturi). Mor repede la uscăciune.

Treponemele supravieţuiesc 1—2 zile în plasmă, ser, sînge, la temperatura frigiderului (+ 4°); congelate la — 70°, în mediu cu 15% glicerol, rămîn viabile ani; în cadavru (făt sifilitic), supravieţuiesc 4—5 zile.

Sînt foarte sensibile la toate antisepticele inclusiv cele mai slabe; apa şi săpunul le omoară instantaneu.

5. ANTIGENE PENTRU SDS, ANTICORPI, VALOARE DIAGNOSTICĂ

Structura celor trei treponeme înalt patogene este aproape identică. Aceleaşi Ag şi teste de diagnostic se folosesc în sifilis, bejel, pinta şi pian. De aceea, ne vom referi numai la *T. pallidum* şi serodiagnosticul sifilisului (SDS). Fiind necultivabilă, datele privind structura *T. pallidum* sînt încă incomplete. Se diferenţiază cel puţin trei structuri antigenice:

ANTIGENUL LIPOIDIC „CARDIOLIPIN” UBICVITAR

Este un hapten ubicvitar prezent la toate speciile *Treponema*, în unele ţesuturi (ficat, cord), la alte bacterii, chiar plante. Legat de proteinele de structură ale *T. pallidum*, determină la bolnav titruri mari de *Ac. antilipoidici* sau *„Wassermann”* (numiţi de primii cercetători „reagine”). Fiind economic şi uşor de extras din cord de bou, „cardiolipinul” este cel mai folosit Ag pentru teste de triaj în SDS. Determină însă reacţii fals pozitive (RFP) cu peste 2% din serurile de la indivizi indemni de sifilis. Aceşti Ac sînt induşi (i) atît de microinfecţii inaparente sau aparente cu treponeme comensale, sau cu alte microorganisme care posedă acelaşi lipoid (dînd aşa-numitele reacţii fals pozitive „acute”, care apar şi dispar odată cu evoluţia bolii infecţioase acute), cît şi (ii) de lipoide tisulare eliberate ca urmare a unor alterări de alte cauze, colagenoze, infecţii cronice, ca lepra, dînd reacţii fals pozitive, de durată, numite „cronice”; (tabel 79). Titrurile RFP sînt în general mai mici decît în sifilis, diferenţe ce pot fi înregistrate numai prin reacţii cantitative; RFP se negativează în reacţii cu Ag specifice.

Cardiolipinul este antigenul cel mai puțin specific[*] pentru SDS dar cel mai folosit pentru un prim triaj serologic, fiind economic. *Un test negativ cu cardiolipin, la individ fără semne clinice și epidemiologice (contaminare probabilă), este considerat negativ pentru sifilis; un test pozitiv, în aceeași situație, trebuie verificat prin teste cu antigen Reiter și/sau T. pallidum Nichols.* Cardiolipinul se folosește în reacții de precipitare, cu tehnica VDRL (*Venereal Disease Research Laboratory*) foarte sensibilă[**] și RFC (folosind tehnica unică pentru toate antigenele).

Verificarea eventualelor RFP cu antigen cardiolipin se face prin reacția cu Ag Reiter

ANTIGENUL PROTEIC REITER, CU SPECIFICITATE DE GEN TREPONEMA

Toate treponemele, patogene și comensale, posedă o proteină comună, specifică de gen; în sifilis apar deci și *Ac antiproteinici* de gen. Ca sursă de Ag proteic este folosită tulpina *Reiter* de *Treponema phagedenis*. *Ag Reiter* este folosit în RFC, pentru *al doilea triaj* al serurilor care au dat reacții pozitive cu cardiolipin. *Serurile pozitive în reacții cu cardiolipin dar negative cu Ag Reiter, la indivizi fără semne clinice sau epidemiologice de sifilis, sînt considerate negative pentru sifilis.*

Numărul de reacții fals pozitive cu Ag *Reiter* este mai redus; sînt datorate anticorpilor apăruți ca urmare a microinfecțiilor recente cu treponeme comensale; verificarea RFP cu antigen *Reiter* se face folosind teste cu Ag *Nichols.*

ANTIGENE T. PALLIDUM, NICHOLS, CU SPECIFICITATE DE SPECII PATOGENE

Încă insuficient demonstrat, treponemele înalt patogene ar poseda un Ag proteic și un hapten polizaharidic comun speciilor patogene; (probabil și cîte un polizaharid specific fiecărei specii patogene). Anticorpii respectivi pot fi puși în evidență prin trei tipuri de reacții serologice:

(i) *testul de imobilizare a treponemei pallidum* (TIT sau TPI[***]); este demonstrat că *Ac imobilizanți* sînt induși numai de speciile patogene: pentru efectuarea testului se folosește ca Ag o suspensie vie de *T. pallidum* tulpina *Nichols*, complement de cobai și serul de cercetat; imobilizarea treponemelor se evidențiază microscopic. Testul este laborios și necesită laboratoare dotate pentru întreținerea tulpinii patogene Nichols, pe iepuri; este un test foarte specific, dar sensibilitatea lui este mai redusă decît a următoarelor teste, cu care este tot mai mult înlocuit;

(ii) *testul FTA-ABS* (Fluorescent Treponema Antibody Absorbtion); ca Ag se folosesc frotiuri cu *T. pallidum*, Nichols, în prezența serului de cercetat și ser fluorescent antiglobulină umană. Pentru ca testul să fie în adevăr specific, anticorpii antilipoidici de gen sînt absorbiți — eliminați—

---

[*] *Specificitatea* unui test serologic se referă la capacitatea lui de a diagnostica numai o anumită infecție — sifilis — și depinde de gradul de specificitate al antigenului folosit: cardiolipinul, antigen comun, poate diagnostica toate cazurile de sifilis (în raport de sensibilitatea testului folosit), dar dă și aproximativ 2% rezultate fals pozitive.

[**] *Sensibilitatea* unui test serologic se referă la capacitatea lui de a pune în evidență cantități cît mai mici de Ac, de a depista bolnavi în fază cît mai precoce.

[***] TIT = test de imobilizare a treponemelor; TPI = *T. pallidum immobilization.*

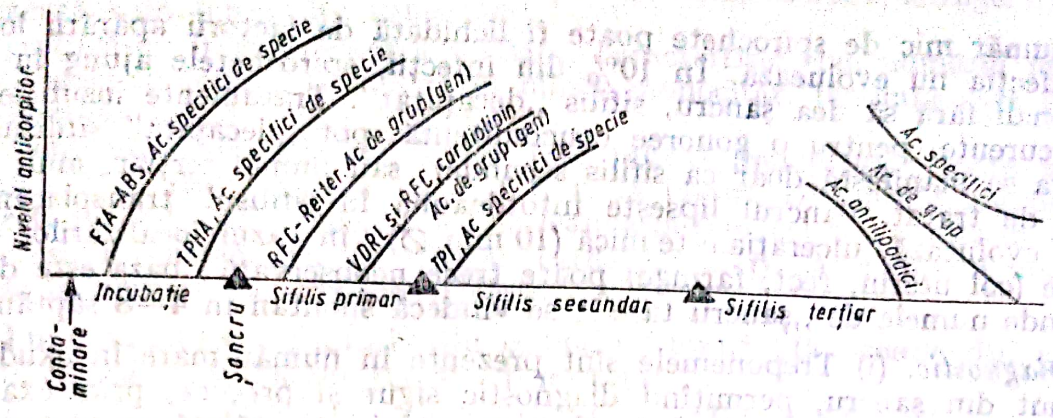


Fig. 133 : Pozitivarea testelor utilizate în SDS, în raport de dinamica celor trei tipuri de anticorpi și de sensibilitatea diferitelor teste.

prin tratarea serului de cercetat cu un sorbent preparat din *T. reiteri*. Ca și alte teste cu AF, executarea necesită un grad de specializare, deoarece poate da reacții false, sau interpretabile, prin fluorescență nespecifică; ca urmare, testul are sensibilitate mare, dar specificitate redusă;

(iii) *testul de hemaglutinare pasivă* (TPHA) este cel mai puțin laborios ca tehnică, la fel de specific ca TPI și mai sensibil ca FTA-ABS; este cel mai bun. Antigenul (standardizat) este reprezentat de suspensia de hematii tanate pe care s-a absorbit Ag specific extras din tulpină *Nichols*; serul bolnavului este întîi adsorbit (ca în testul FTA-ABS); se execută o reacție de aglutinare cantitativă.

Dinamica apariției celor trei tipuri de Ac în timpul infecției sifilitice este diferită: (i) primii apar Ac față de Ag specifice speciilor patogene (probabil cele mai superficiale în structura peretelui bacteriei), puși în evidență prin testele cu Ag *Nichlos*; (ii) urmează Ac antiproteine de gen, puși în evidență cu Ag *Reiter* și, la mică distanță, (iii) Ac antilipoidici evidențiați cu *cardiolipin*. Datorită sensibilității diferite a testelor și dinamicii diferite a Ac, pozitivarea testelor folosite în SDS este succesivă (figurată cu aproximație în fig. 133).

6. SIFILISUL, PATOGENIE, IMUNITATE, DIAGNOSTIC

T. pallidum este o bacterie înalt patogenă; netoxigenă, dar virulentă și sensibilizantă. *Virulența* se manifestă prin capacitatea de a pătrunde prin mucoase și chiar tegumente intacte, sau cu leziuni minime (dînd șancrul, leziunea primară), prin capacitatea de invazie pe cale limfatică (dînd adenită regională în sifilisul primar și micropoliadenopatie în sifilisul secundar) și pe cale sanguină (cu prezența treponemelor în rozeola și plăcile mucoase). *Capacitatea sensibilizantă* se manifestă din faza de sifilis secundar, prin infiltratele limfoplasmocitare macrofagice perivasculare, dar, mai ales în sifilisul terțiar, prin apariția leziunilor necrozante care se formează în jurul focarului de infecție latentă (caracteristic fenomenelor de tip *Arthus* combinat cu reacție inflamatorie de tip IMC), cu pozitivarea i. d. r. tip celular întîrziat, la luetin.

Sifilisul evoluează deci în trei faze:

Sifilis primar este caracterizat de apariția șancrului la poart de intrare, în medie la 2—6 săptămîni de la contaminare. Contaminare cu număr mic de spirochete poate fi lichidată de factorii apărării locale și infecția nu evoluează. În 10% din infecții, spirochetele ajung în ggl. regionali fără să dea șancru, sifilis „decapitat". Tratamente insuficiente, intercurente, pentru o gonoree concomitentă, pot „decapita" sifilisul, și acesta se manifestă doar ca sifilis secundar, sau numai terțiar, mult mai greu de tratat. Șancrul lipsește întotdeauna în sifilisul transplacentar. Cînd evoluează, ulcerația este mică (10 mm ∅) ; în cazul localizărilor profunde (col uterin, rect, faringe) poate trece neobservată ; baza este dură, de unde numele de „șancru tare" ; se vindecă spontan în 4—8 săptămîni.

Diagnostic. (i) Treponemele sînt prezente în număr mare în exudatul obținut din șancru, permițînd diagnostic sigur și precoce, prin examen microscopic, pe fond negru : (suprafața șancrului este spălată cu un tampon îmbibat în ser fiziologic, steril, uscată, scarificată, fără sîngerare ; serozitatea aspirată în pipetă este depusă pe lamă) ; după cicatrizarea eroziunii, treponemele pot fi evidențiate mai greu, în serozitatea din ggl regionali. (ii) Chiar anterior apariției șancrului, în suspiciuni de contaminare, este posibil un diagnostic serologic precoce prin TPHA sau FTA-ABS. La sfîrșitul fazei de sifilis primar, se pozitivează și testele cu Ag Reiter și cardiolipin (fig. 133).

Sifilisul secundar reprezintă infecția generalizată pe cale limfatică și sanguină, care se instalează la aproximativ 2—6 săptămîni, pînă la 6 luni de la debutul infecției și durează luni, cu poliadenopatie, erupție cutanată (*rozeola sifilitică* generalizată) și pe mucoase (*plăci mucoase*, eroziuni pe mucoasa buco-faringeană, genitală, rectală), leziuni inflamatorii articulare, osoase, oculare, nervoase, dureroase, cu febră, cu letalitate mare ; se poate vindeca spontan.

Diagnosticul în sifilis secundar este microbiologic (spirochetele pot fi puse în evidență în exsudat din leziuni cutanate și mai ales în „plăcile mucoase", prin examen microscopic) și serologic (toate testele sînt pozitivate, iar titrul Ac este ascendent).

Sifilisul terțiar apare numai la un procent redus din bolnavii netratați, sau insuficient tratați în fazele anterioare, la care vindecarea clinică nu s-a însoțit de sterilizare bacteriologică, și treponeme vii pot persista în focare tisulare, inaccesibile anticorpilor : creier, măduvă, tegumente, pereții vaselor mari, unele viscere.

Manifestările apar după 2—10 și chiar mai mulți ani de la dispariția simptomelor secundare. În acest interval, singurele semne care demonstrează existența *infecției latente, sau „sifilisul terțiar asimptomatic"*, sînt imunologice :

— variații de titruri (remisiuni și ascensiuni) ale reacțiilor serologice generate de eliberări intermitente de antigene din focarul infecțios ;

— pozitivare 100% a i. d. r. de tip întîrziat la *luetin.*

Manifestările clinice majore de sifilis terțiar variază de la *gome cutanate* și *gome osoase*, cu sechele benigne, pînă la *sifilisul cardiovascular*, aortită și anevrism grav (care poate afecta 7—8% din bolnavii netratați, adesea mortal) și *sifilisul nervos* medular, sau „tabes", și cerebral, sau „paralizia generală progresivă", PGP (care afectează pînă la 2—3% din bolnavii netratați în fazele anterioare, cu leziuni de SNC ireversibile) ; *gomele visce-*

rale pot avea localizări foarte variate (ficat, limbă, testiculi, laringe, rinichi, cauzează cam 0,5% din orbiri etc).

Oricare ar fi manifestarea terţiară, caracteristic este numărul mic de treponeme în leziuni şi infiltratul masiv monocitar, tendinţa spre proces de necroză locală sau/şi sclerozare.

Diagnosticul în sifilisul terţiar este numai imunologic: toate testele pentru SDS sînt pozitive, ca şi i. d. r. la luetin. Diagnostic microscopic nu este posibil, treponemele fiind totdeauna puţine, cel mai adesea în leziuni inaccesibile (sistem nervos central, cardiovascular), iar numărul mic pretează la confuzii cu artefacte tisulare.

Imunitate. Sifilisul este o boală imunizantă; reiese din analiza imunologică a sifilisului tratat şi netratat:

(i) Dintre bolnavii cu sifilis primar netratat, doar 25% fac sifilisul secundar; la restul, are loc sterilizarea bacteriologică datorită Ac umorali şi IMC; din cei ce fac sifilis secundar, aproximativ 70% se vindecă cu eliminarea treponemelor din organism, demonstrînd o foarte bună reactivitate imunologică treponemicidă.

La indivizi la care are loc vindecarea bacteriologică (cu dispariţia Ag din organism), titrul reacţiilor serologice descreşte continuu, uneori pînă la ştergerea completă, alteori cu stabilizare la valori scăzute, fără ascensiuni, care pot persista ani de zile şi chiar toată viaţa (ca şi în alte infecţii).

Dintre aceia la care sterilizarea de treponeme nu are loc, numai aproximativ jumătate fac forme clinice, restul este *infecţie latentă*, asimptomatică, identificată numai serologic şi prin i. d. r.

(ii) La bolnavii trataţi, tratamemtul instituit precoce (înainte sau la scurt timp după pozitivarea reacţiilor serologice) determină vindecarea fără imunizare, reinfecţia fiind posibilă. Instituirea tratamentului în fază de reactivitate imunologică, sifilis secundar, determină de asemenea sterilizare de treponeme, organismul rămînînd însă imunizat; dacă recontaminarea are loc, se produce doar un *booster*-efect imunologic (ridicarea rapidă a Ac la titruri înalte), urmată de o scădere mai lentă, dar continuă.

7. DIAGNOSTIC DE LABORATOR

DIAGNOSTIC LA BOLNAV

În rezumat, diagnosticul de sifilis poate fi microscopic, prin punerea în evidenţă a treponemelor în sifilisul primar (şancru, ggl regionali) şi secundar (serozitate din leziuni cutanate şi mucoase). În toate trei fazele este posibil serodiagnostic.

Pentru SDS, în laboratoarele noastre se utilizează în prezent teste cantitative cu *cardiolipin* (în test de precipitare tehnica VDRL şi în RFC) şi cu *antigen Reiter*, în RFC (tehnică unică pentru toate antigenele *).

---

* SDS a fost publicat în *Rev. Med. Chir.*, 1976, nr. 3, p. 457–458, continuare în nr. 4, p. 611–618, continuare în nr. 1, 1977, p. 141–150. Tehnica RFC, *Bradstreet* şi *Taylor*, a fost experimentată în SDS, timp de 10 ani în laboratorul disciplinei de Microbiologie IMF Iaşi, este publicată în Rev. Med. chir. nr. 1, 1977, 141–150.

La bolnav serurile se lucrează concomitent în VDRL și RFC, cu cardiolipin și antigen Reiter; serurile pozitive în toate trei reacțiile sînt considerate pozitive pentru SDS.

INVESTIGAȚII SEROEPIDEMIOLOGICE PENTRU SIFILIS LATENT

În scopul depistării sifilisului latent și, eventual, a fazei de incubație, controale serologice obligatorii se practică la intrarea în școli, în servicii, la armată, premarital. Se face un prim triaj prin test VDRL cu cardiolipin; serurile pozitive sînt triate în RFC, întîi cu cardiolipin, apoi cu antigen Reiter, sau concomitent, în teste cantitative.

Serurile negative în VDRL cantitativ sînt considerate negative pentru SDS; serurile pozitive în VDRL și RFC cu cardiolipin, necesită verificare prin RFC cantitativ cu Ag Reiter.

Nu dispunem încă de antigene *Nichols* specifice, dar, o interpretare corectă, pe bază de reacții executate în teste cantitative, în dinamică (pe seruri repetate la intervale de 15—30 zile), suplinește cu succes testele cu Ag specifice:

— dinamica ascendentă a anticorpilor (creșterea titrurilor) indică infecție evolutivă (în sifilis secundar, se ating titruri de 1/2 048 în RFC cu cardiolipin și 1/256 în VDRL);

— creșteri și remisiuni succesive de titruri indică persistența treponemelor în focare de infecție latentă, „sifilis terțiar inaparent", capabile să genereze sifilis terțiar manifest;

— scăderea continuă a titrului pînă la negativare sau cu stabilizare la valori scăzute demonstrează vindecare bacteriologică, sterilizarea de *T. pallidum*;

— o ridicare bruscă de titru la un fost sifilitic cu serologie negativă sau stabilizată este interpretată ca un *booster*-efect imunologic, indicînd o reinfecție, inaparentă (datorită bunei reactivități imunologice); impune examinarea clinică și prin teste serologice în dinamică (probe repetate) care trebuie să pună în evidență o continuă scădere de titru.

8. SENSIBILITATE LA ANTIBIOTICE

Treponemele sînt sensibile la practic toate A; penicilina este de elecție în terapie. Eficiența depinde de precocitatea diagnosticului; în sifilis terțiar, latent și clinic, treponemele sînt puțin active metabolic, încît A sînt mai greu eficiente. (Antibioticul poate steriliza focarul infecțios, dar nu vindecă leziunile distructive produse.)

9. PROFILAXIA

Profilaxia este în primul rînd individuală, bazată pe metode simple de igienă (v. cap. XXIII A, *N. gonorrhoeae*):

— evitarea contactului sexual cu persoane necunoscute (medical);

— prezentare la medic după contact sexual posibil contaminant, sau simptomatologie suspectă ;

— supravegherea suspecţilor de contaminare sifilitică timp de 3 luni, prin examene clinice şi serologice la fiecare 15 zile ;

— anchetă epidemiologică de depistare a surselor de infecţie (contacţi sexuali), cu tratarea pînă la vindecare bacteriologică a fiecărui nou caz ;

— depistare sistematică a sifilisului în masa populaţiei prin metoda seroepidemiologică şi tratament ;

— profilaxia sifilisului congenital prin certificatul prenupţial de sănătate, control periodic al mamei ; tratare intensivă a viitoarei mame bolnave, în timpul sarcinii.

Această metodologie riguros şi „general" aplicată (!) este în măsură să ducă la dispariţia izvoarelor de infecţie şi chiar la eradicarea sifilisului, avînd în vedere că omul, fiinţa conştientă, este singurul rezervor al acestuia în natură. Morbiditatea este însă în creştere, ceea ce înseamnă insuficientă educaţie sanitară a tineretului.

Nu s-a precizat încă nimic cu privire la antigene imunizante ; suspensiile omorîte de *T. pallidum* nu ar fi imunizante. Vaccinarea antisifilitică rămîne un deziderat. (În alte infecţii cu manifestări de sensibilizare de tip celular, cu leziuni granulomatoase — TBC, bruceloza —, rezultate bune au dat pînă acum numai vaccinuri vii atenuate).

Tabelul 79

Boli şi stări cu reacţii fals pozitive (RFP) la cardiolipin

Stări cu RFP acută (tranzitorie)	incidenţă aproximativă	Stări cu RFP cronică	incidenţă aproximativă
Infecţii bacteriene :		Tuberculoză	3–5%
pneumonia pneumococică	2–5%	Lepra	60%
,, cu *Mycoplasma*	20%	Alcoolismul cronic	?
scarlatina	5%	Donările de sînge repetate	?
leptospiroza	10%	Neoplasme	?
febra recurentă	30%	Boli alergice :	
tifos exantematic	20%	colagenoze :	
limfogranulom venerian	20%	lupus eritematos diseminat	20–33%
Infecţii virale :		artrita reumatoidă	5%
rujeola, rubeola, varicela	5%	periartrita nodoasă	?
hepatita infecţioasă	10%	dermatomiozita	?
mononucleoza infecţioasă	20%	boli de autoagresiune :	
guturai	?	tiroidita Hashimoto	25%
Infecţii parazitare :		anemia hemolitică	
malaria	100%	purpura trombocitopenică	
tripanosomiaza	10%	Anomalii ale proteinelor serice	
Sarcina		Bătrîneţe	
Vaccinarea antivariolică	1–2%		
Boala serului			

BIBLIOGRAFIE

1. BERNESCU E. : Contribuţii la studiul dinamicii anticorpilor în infecţia sifilitică. Valoarea reacţiilor cantitative în interpretarea diagnosticului şi aplicarea terapiei în sifilis. *Teză de doctorat*, IMF Iaşi, 1973.
2. BETZ A. : Valeur de la réaction d'immunofluorescence après absorption des sérum pour le tréponème de Reiter pour le sérodiagnostic de la syphilis. *Bull. OMS, 34*, 1, 1966.
3. CATTERALL R. D. : Systemic diseases and the biologic positive reactions. *Brit. J. Vener. Dis.*, *48*, 1, 1–13, 1972.

4. COLLARET P., POITEVIN M.: Le problème des tréponèmes penicillino-résistants. *Sem. Hôp. Paris*, nr. 22, 1975.
5. CONU A.: *Dermato-venerologia*. Ed. didactică şi pedagogică, Ed. a II-a, Bucureşti, 447–492, 1973.
6. DAGUET G. L.: Réaction de fixation du complément en virologie. *Rev. Franç. Etudes Clin. Biol.*, 9, p. 940, 1961.
7. DEACON W. E., LUCAS J. B., PRIU E. V.: Fluorescent antibody absorption (FTA-ABS) test for syphilis. *J. Am. Med. Ass.*, 198, 624–628, 1966.
8. DIAPMAR I., MARCHAND J.-P.: Diagnostic des tréponematoses chez les africains *Concours Méd.*, *98*, 17, 24/4, 2 569–2 582, 1976.
9. DUCA E., BERNESCU E.: Propuneri pentru standardizarea serodiagnosticului sifilisului (SDS). *Rev. Med. Chir.* Iaşi, nr. 3, 457–467 şi nr. 4, 611–618, 1976.
10. DUCA M., DUCA E.: Criterii pentru utilizarea unei tehnici unice de fixare a complementului în serodiagnosticul bolilor infecţioase (virale, bacteriene, micotice şi parazitare) şi în studiul bolilor imunologice. *Rev. Med. Chir.*, nr. 2, 283–292, 1976.
11. DUPONEY P.: Structure antigénique des tréponèmes mise en evidence d'un nouvel haptène lipidique dans *T. reiteri*. Étude de sérums humaines contenant des anticorps dirigés contre cet haptène. *Ann. Inst. Pasteur*, *122*, 2, 283–295, 1972.
12. GARNER M. P.: Chronic biological false positive reactions to serological tests for syphilis to blood donors. *J. Clin. Path.*, *23*, 6, 478–480, 1970.
13. GEORGESCU M.: Contribuţii la îmbunătăţirea metodelor de diagnostic serologic al sifilisului în România. Studiul şi prepararea în vederea producţiei antigenelor cardiolipinice. *Teză de doctorat*, IMF Bucureşti, 1969.
14. GUTHE T. et all: Metohods for the surveillance of endemic treponematoses and sero-immunological investigation of „disappearing" disease. *Bull. OMS*, *46*, 1, 1–14, 1972.
15. GUTHE T.: Education to combat „genital pollution". *Features*, 9, 1971.
16. IDSØE O., GUTHE T., WILLCOX R. R.: Penicillin in the treatment of syphilis; the experience of three decades. *Bull. OMS*, 47 (suppl.), 1972.
17. JENNIS F.: Atypical FTA-ABS test fluorescence in lupus erytematosus. *J.A.M.A.*, *215*, 3, 488–490, 1971.
18. JUE R., PUFFER J. et all.: A comparison of fluorescent and conventional darkfield methods for the detection of *T. pallidum* in syphilis lesions. *Am. J. Clin. Path.*, *47*, 809–811, 1967.
19. MACFARLANE D. E.; KAY H., ELIAS-JONES T. F.: Evaluation of automated large-scale screening tests for syphilis. *J. Clin. Path.*, *29*, 317–321, 1976.
20. MUSHER D. M., SCHELL Pr. R. F.: Immunologie de la syphilis. *M. P.*, 671, 21–30, 1977.
21. MUSHER D. M., IZZAT N. N. et all: *In vitro* phagocytosis of avirulent *T. pallidum* by rabbit macrophages. *Acta Dermat. Vener.*, *52*, 5, 349–352, 1972.
22. NELSON R. A. Jr. MAYER M. M.: Immobilization of *T. pallidum* in vitro by antibody produced in syphilitic infection. *J. Exp. Med.*, 89, 369–393, 1949.
23. PARIS-HAMELIN A., VAISMAN A. et all: La réaction d'hémagglutination passive pour le sérodiagnostic de la syphilis (T. P. H. A.). *Méd. Malad. Infect.*, *4*, 10, 537–542, 1974.
24. RENOUX M.: Interprétation pratique des réactions sérologiques de la syphilis. *Presse Méd.*, *79*, 15, 685–689, 1971.
25. RIMBAUD L.: Un inquiétant probleme de syphiligraphie: les réactions sérologiques irréductibles. *Presse Méd.*, *76*, 52, 2 471–2 472, 1968.
26. SEPTIJION M. et all: Le diagnostic immunologique de la syphilis: Utilisation d'antiglobulines marquées à la peroxydase. *Presse Méd.*, nr. 34, 1973.

27. SPARLING P. F.: Diagnosis and treatment of syphilis. *N. Engl. J. Med.*, *284*, 12, 642—659, 1971.
28. STADTSBAEDER S.: Valeur des divers tests sérologiques de la syphilis. *Allergie Immun.* 3, p. 203, 1972.
29. SZERSNOVIEZ F., GIGANDET M.: La réaction d'hémagglutination passive dans le diagnostic immunologique de la syphilis. *Bordeaux Méd.*, 10, 1, 1—**7**, 1977.
30. TOMECKI K. J., PLAUT M. E.: Syphilis surveillance. *J.A.M.A*, *236*, 23, p. 2 641, 1976.
31. TUFFANELLI D. L., WUEPPER K. D.: Biological false positive reactions for syphilis. Studies with the FTA-ABS. test. *XIII Congr. international Dermatol.*, Springer Verlag vol. 1, 391—393, 1968.
32. WOOD R. M. et all: Comparison of the fluorescent treponemal antibody absorption and *T. pallidum* immobilization tests on serums from 1 182 diagnostic problem cases. *Am. J. Clin. Path.*, 47, 521—524, 1967.
33. * * *: Immunological and microbiological reference reagents. ,,Veneral Disease Reference Reagents''. U.S. Depart. Hlth, Education and Welfare, Publ. Hlth Serv., 1973.
34. * * * Penicillin in the treatment of syphilis. *WHO Chronicle*, *27*, 5, 205—208, 1973.
35. * * * Tehnica reacției de fixare a complementului după Bradstreet și Taylor. Metoda standard pentru toate antigenele. *Rev. Med. chir.* Iași, nr. 1, 141—150, 1977.

B. GENUL LEPTOSPIRA

Denumirea *Leptospira*, caracterizează aspectul spirochetelor curpinse în acest gen (*leptos*=subțire) ; sînt cele mai subțiri și au cele mai fine spire ; denumirea speciei, *L. interrogans* (*Stimons*, 1907, prima descriere), subliniază aspectul cu capete în cîrlig, în ,,semn de întrebare'' (fig. 132). Genul *Leptospira* cuprinde leptospire saprofite-nepatogene și parazite-patogene :

Leptospirele saprofite trăiesc libere în ape, mai ales ape stătătoare de suprafață, limpezi ; sînt numite generic *Leptospira biflexa* (neomologată ca specie, deoarece nu au fost precizate încă proprietățile diferențiale) Diferența de cele patogene se face pe baza incapacității de a da boală experimentală, ușurința cu care cresc pe medii fără ser, la temperaturi joase (13°C), și prin habitat. Sînt foarte heterogene serologic ; au fost descrise 24 serogrupe și 50 serotipuri ; (s-a făcut propunerea proscrierii denumirilor binomiale utilizate pînă acum pentru desemnarea acestor serotipuri).

Leptospirele patogene sînt reunite în specia *L. interrogans**, foarte heterogenă serologic.

În 1967, grupul de experți OMS recunoștea peste 130 serotipuri grupate în 18 serogrupe. Atît serogrupele cît și serotipurile au fost denumite, pe măsura descrierii lor, binominal (ca denumirile rezervate taxonomic numai speciilor) ; astfel, în 1914—15, *Inada* și *Ido* cultivau o leptospiră patogenă pe care au numit-o *L.icterohaemorrhagiae*, după aspectul grav, hemoragic, al cazului din care a fost izolată ; a urmat o listă de peste 130 serotipuri și denumiri binominale (tabel 80).

Multă vreme s-a considerat că aceste serotipuri au o distribuție geografică strictă, în raport cu specia de rozător reprezentînd gazda naturală ; s-a văzut apoi că răspîndirea lor pe glob este mult mai uniformă. În prezent, se recunoaște tot mai adesea, că este vorba de o mare variabilitate antigenică și mulți cercetători folosesc, în loc de serotip, termenul de serovariantă *(serovar-serovars)* ; au fost înregistrate diferențe de încadrare a aceleiași tulpini, ca serotip, de la laborator la laborator; aceste diferențe sînt datorate metodelor diferite de preparare a reactanților: serurile de diagnostic (problemă de imunizare) și suspensiile de leptospire-antigen (problemă de densitate și mod de cultivare).

---

* Unii cercetători încadrează toate leptospirele într-o specie unică, *L. interrogans*.

Se așteaptă o reclasare a serotipurilor, după ce vor fi adoptate metodologii standard, atît pentru prepararea reactivilor biologici (seruri imune și antigene), cît și pentru tehnicile de serotipare.

Pînă în prezent, pare precizată existența a patru genotipuri (diferențiate prin proporția guanină + citozină în ADN, și unele corespondențe metabolice): 1, 2, 4, care încadrează leptospirele patogene și 3 care încadrează leptospirele saprofite.

Tabelul 80

Leptospira interrogans, serogrupe și serotipuri

Serogrupe	Nr. serotipuri *
L. icterohaemorrhagiae	13
L. javanica	6
L. celledoni	2
L. canicola	11
L. ballum	3
L. pyrogenes	9
L. cynopteri	3
L. autumnalis	13
L. australis	10
L. pomona	6
L. grippotyphosa	2
L. hebdomadis	28
L. bataviae	9
L. tarassovi	10
L. panama	2
L. shermani	1
L. semaranga	3
L. andamana	1

* Fără denumirile binomiale (proscrise).
(După OMS, 1967)

LEPTOSPIRA INTERROGANS

MORFOLOGIE ȘI EXAMEN MICROSCOPIC

Filamente lungi (6—20 µm) și foarte subțiri (0,1 µm ∅ filamentului, 0,2—0,3 ∅ cu tot cu spire), cu spire foarte strînse și regulate; capetele întoarse în cîrlig.

La m. e., filamentul axial apare constituit din 2 fibrile; în jurul lor este regulat răsucit cilindrul protoplastic (fig. 20. B, cap. II).

Se colorează numai prin metode prelungite și prin impregnații argentice; prin aceste tratări, spirele se desfac și leptospirele pot fi lesne confundate cu diferite artefacte, de aceea, colorațiile nu sînt folosite în practica diagnosticului.

Atît în culturi cît și în produse patologice, leptospirele apar foarte caracteristice în preparat umed, la microscop cu fond negru, ca formă (fig. 134) și ca mobilitate: mișcări rapide de rotație în jurul axului longitudinal (încît spirele dau impresia de fine granulații, iar capetele curbate iau aspect de buton terminal); mișcări active de flexie, pendulare, deplasare în ambele direcții ale axului (înșurubare) și de translație. *În laboratorul clinic, punerea în evidență a acestor aspecte în produse patologice de la bolnav (plasmă, urină), este suficient pentru precizarea diagnosticului de infecție cu Leptospira.*

(Datorită fineții și mobilității foarte mari, leptospirele trec prin filtre care rețin celelalte bacterii și, probabil, astfel se explică și penetrabilitatea prin mucoase și tegumente intacte, prin spațiile intercelulare.)

CULTIVARE

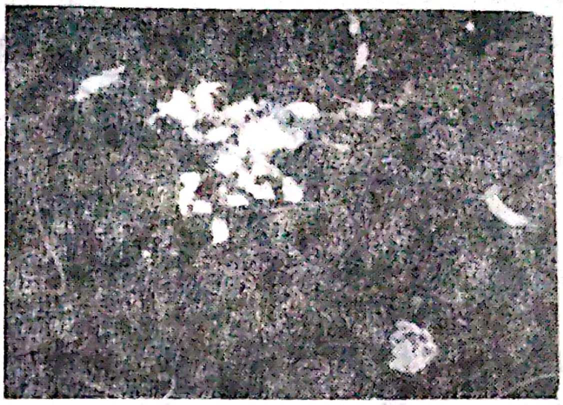


Fig. 134 : L. incterohaemorrhagiae (cultură — examen pe fond negru).

Cultivă în medii lichide simple (apă peptonată 1%, tamponată la *p*H 7,2, cu 10—40% ser inactivat de iepure), la 28°, în aerobioză. La izolarea din organism, se dezvoltă lent, în 10—30 zile; însămînțările nepozitivate sînt supravegheate pînă la 50 de zile. Tulpinile de referință (întreținute pentru folosire ca antigen în cercetări serologice) se dezvoltă în 7—8—12 zile.

Prin cultivare, rareori mediul devine ușor opalescent, cel mai adesea rămîne nemodificat, cultivarea leptospirelor punîndu-se în evidență numai prin microscopie pe fond negru. Chiar în condiții optime, cultura este discretă, 300—500 leptospire pe cîmp microscopic; *(cultura, ca atare, este folosită ca antigen pentru identificări serologice prin test de aglutinare-liză).*

Leptospirele cultivă și pe oul de găină embrionat, în lichidul alantoidian.

(Leptospirele, la fel cu mycoplasmele, diferă de alte bacterii prin aceea că dezvoltarea lor pe medii de cultură este inhibată de serul omolog, în absența complementului.)

SENSIBILITATEA LA FACTORI FIZICI ȘI CHIMICI

Mor în 30 min la 50—55°C; mor rapid la uscăciune, în toate antisepticele. Leptospirele patogene supraviețuiesc în ape naturale (rîuri, lacuri, fîntîni) și în piscine pînă la 22 zile, iar în sol umed, la întuneric, pînă la 3 luni.

HABITAT, CONTAMINARE

Gazdele naturale ale leptospirelor patogene sînt rozătoare mici, mai ales șobolani, șoareci, care trăiesc în medii umede (mine, tranșee, abatoare, canale, orezării), dar și bovine, cai, cîini, pisici și mai ales porci, la care evoluează o infecție enzootică. Animalele fac infecții latente inaparente, sau ușoare, cu bacteriemii, imunizante. Leptospirele depășesc filtrul renal și, ajunse în urina filtrată în tubii contorți din cortexul renal, persistă și se înmulțesc luni și ani, uneori toată viața, acesta reprezentînd realul lor habitat natural; eliminîndu-se prin urină (leptospirurie), contaminează, ape, sol, alimente.

Omul se poate contamina pe cale digestivă (apă și alimente contaminate) și prin contact direct, în special cu apă (scăldat în piscine, bălți, lacuri,

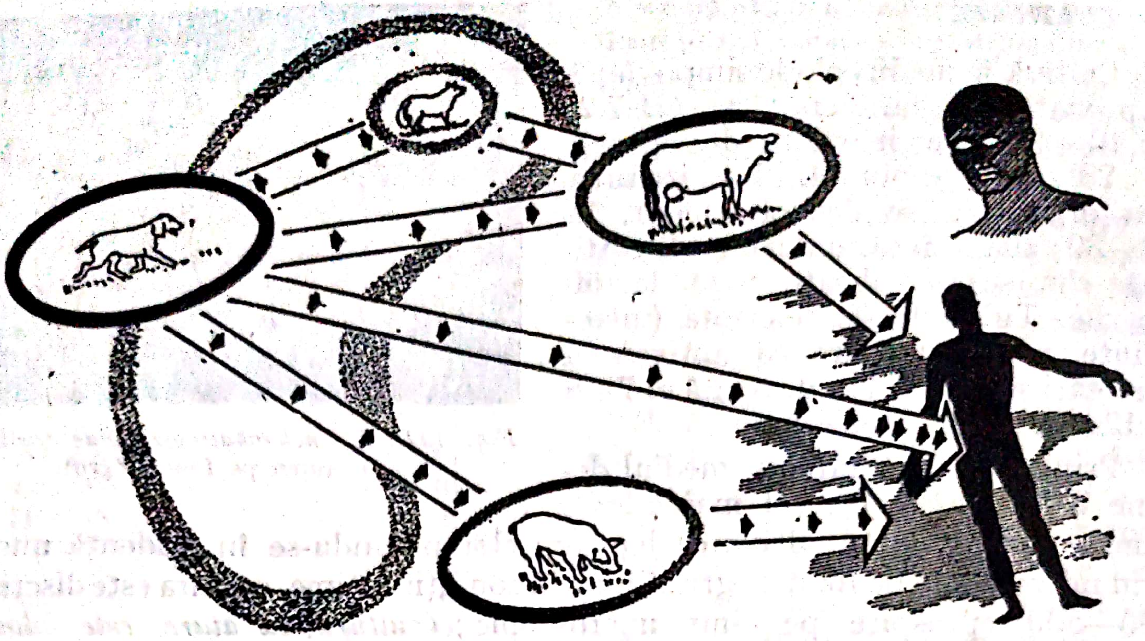


Fig. 135 : Transmiterea leptospirelor de la cîine la alte animale şi la om (Public Health Reports 70; reprodus din *Thompson M.* and *E.*, 1958).

rîuri), muşcături de şobolan, şoarece; leptospirele pătrund în ţesuturi prin mici escoriaţii, dar şi prin conjunctivă, mucoase şi tegumente intacte. Datorită acestor posibilităţi de contaminare, leptospirozele îmbracă uneori aspecte de boală profesională; mai frecvente la mineri, cultivatori de orez, pescari, porcari, soldaţi în tranşee, înotători, lucrători la canale de scurgere etc. Contactul cu ape poluate de rozătoare este mai frecvent în lunile de vară-toamnă, infecţia avînd caracter sezonier (fig. 135).

STRUCTURA ANTIGENICĂ

Structura antigenică, insuficient cunoscută; datele de pînă acum confirmă o structură de perete similară enterobacteriaceelor.

Ag de specificitate* ; leptospirele posedă cel puţin două structuri de perete, lipopolizaharid (LPS) cu specificitate de gen şi poliozizi cu specificităţi de serotip:

(i) Lipopolizaharid (şi fracţiuni reziduale proteinice, mai profunde), *cu specificitate de gen*, comun leptospirelor patogene şi „complexului biflexa". *Parnas*, prin studii imunochimice, pune în evidenţă în structura de perete, la toate serogrupele, cel puţin 7 monozaharuri comune, regăsite de *Yanagihara* şi la tulpini *biflexa*.

Pe baza structurilor comune, se pot prepara antigene pentru serodiagnosticul de specie: infecţie cu *Leptospira interrogans*, singurul necesar în scop terapeutic. (*Mailloux*, 1975, separă un astfel de Ag de grup pornind de la orice tulpină patogenă; *Sturdza*, *Nicolescu* și colab. de mulți ani, prepară un Ag fixator de C, cu specificitate de gen, din tulpina saprofită *biflexa*, *patoc I*).

---

* Cele mai multe date se bazează pe studiile exclusiv serologice, prin absorbţia aglutininelor; mai puţine sînt confirmările imuno-chimice.

(ii) Poliozizi periferici cu specificitate de tip, (*Parnas* a pus în evidență monozaharuri prin care se diferențiază serogrupe și serotipuri); după unii cercetători, structurile cu specificitate de tip sînt proteinopolizaharide.

Factori de patogenitate leptospirele sînt bacterii virulente, netoxigene, capabile de fenomene de sensibilizare de tip ,,endotoxină'' (v. cap. XX).

(i) În ce privește *virulența*, unii cercetători admit un factor ,,mecanic'' (sugerat de diametrul foarte mic, mobilitatea foarte mare, mișcările de rotație și înșurubare, capacitatea de a pătrunde printre și în diferite tipuri de celule, demonstrată de *Faine* și *Hudson*, 1975, prin m. e.); ar explica *pătrunderea* fără leziuni la poarta de intrare (prin tegumente, conjunctivă și mucoase intacte), cu *invadare* rapidă* în curentul sanguin și în toate organele (ficat, rinichi, meninge, în ochi etc.), pătrund intracelular producînd alterări.

Leptospirele sînt dotate și cu activități enzimatice: *fosfolipazice* (degradînd fosfolipide legate de lipoproteine serice și din membrane celulare, hematii) și *lipolitice* (degradînd lipoproteinele), *butiraze*, *amidaze*, *transamidaze*, *hemolizină* (diferită de fosfolipază).

(ii) Posedă ,,endotoxine'', prezente atît la tipurile patogene, cît și la cele saprofite (*Sefer*, 1965), corespunzînd antigenului comun lipopolizaharidic, capabile de aceleași efecte patologice ca și ,,endotoxinele'' enterobacteriaceelor (*Stalheim* implică în aceste fenomene în special lipidul); prezența LPS explică și rezistența leptospirelor la fagocitoză, în organism neimunizat.

LEPTOSPIROZA

Legat de mod de contaminare, sezonalitate, grad de patogenitate a tipului infectant, pentru leptospiroze au fost descrise numeroase sindroame clinice care, inițial, au fost legate cauzal de anumite serotipuri: leptospiroza icterohemoragică sau ,,boala lui *Mathieu* (1881), *Weil* (1886), *Vasiliev* (1888)'', ,,febra de baltă'' (scăldat), ,,febra de cîmp'' (rozătoare), ,,febra de seceriș'' (șoareci), ,,febra de 7 zile'', ,,febra tinerilor porcari'', ,,febra de toamnă'' etc.

Coordonarea studiilor pe plan mondial a dus la concluzia că leptospirozele sînt infecții care pot evolua de la *inaparente*, cele mai multe (cu leptospirurie și apariția de Ac), și forme clinice ușoare, *leptospiroze anicterice*, pînă la foarte grave cu *sindrom icterohemoragic*, hepatic, renal, meningeal

---

* Inoculate în nr. mare (600—10^6), leptospirele sînt regăsite în sînge după 5 min, pînă la 120 ore.

(de la mici hemoragii gingivale, injectarea conjunctivelor, sufuziuni subcutanate, pînă la hemoragii în parenchimul hepatic, renal, mușchi, meninge).

Se consideră azi că multe din aceste simptome grave din leptospiroză se datoresc nu numai virulenței ci și fenomenelor de sensibilizare la „endotoxină" (cap. *Leptospira*, *Dumas*, 1975, p. 853 k).

În forme icterohemoragice grave netratate, letalitatea este în medie de 6—8%; în cele tratate, numai antibacterian, de 3%.

Morbiditatea prin leptospiroze clinice este redusă.

În țara noastră, primele cazuri de leptospiroză confirmate bacteriologic și serologic au fost studiate de *Cornelson*, *Petrea* și colab. în 1948, într-un focar epidemic din nordul Moldovei, de *Enescu* și colab. într-un focar din orașul Iași; *Nicolescu* și *Moldoveanu* raportează pentru perioada 1950—1974 confirmarea serologică a infecției (clinică și inaparentă), în medie, la 854 seruri anual, cu 14 cazuri mortale. În USA, în 1975, au fost raportate 119 cazuri clinice.

IMUNITATEA

Imunitatea în leptospiroze este umorală; lasă o imunitate omologă (de serotip, sau serogrup) durabilă și o imunitate „parțială", manifestată și față de alte serotipuri, cele mai apropiate din punct de vedere antigenic de serotipul infectant.

Anticorpii serici încep să apară spre sfîrșitul primei săptămîni de boală și ating titrul maxim cam în a treia săptămînă; apariția lor are drept consecință dispariția leptospirelor din sînge și apoi și din țesuturi. Titrurile aglutinante ating 1/100000 și chiar mai mult.

Experimental, atît IgM cît și IgG protejează hamsterul de infecția letală *(Faine)*.

DIAGNOSTIC ETIOLOGIC

Infecția cu *Leptospira* poate fi confirmată numai prin teste microbiologice și serologice.

a) **Diagnosticul microbiologic** este probă certă; aceeași valoare diagnostică are punerea în evidență a leptospirelor, caracteristice ca formă și mobilitate, prin (i) examen microscopic pe fond negru în produs patologic, plasmă, l. c. r., urină, biopsie de ficat, de la bolnav, (ii) în produse (sînge din cord, exsudat peritoneal, titrurate de ficat, splină) provenite de la cobaiul inoculat cu produse de la bolnav și (iii) în medii însămînțate cu aceleași produse de la bolnav.

Leptospirele sînt prezente în sînge în prima săptămînă de boală, rareori după a 8-a zi, și se elimină prin urină începînd din a 2-a săptămînă, timp de 4—6 săptămîni, intermitent. La bolnavi cu reacții meningeale, sînt prezente și în l. c. r. Atît examenul microscopic cît și însămînțările, inoculările, se fac în prima oră după recoltarea produsului patologic, datorită sensibilității leptospirelor la acidifierea urinii și la anticorpii eventual apăruți în sînge și în l. c. r.

(i) *Microscopia pe fond negru*, pentru punerea în evidență a leptospirelor în plasmă[*], este metoda care permite diagnostic precoce și rapid. Raritatea leptospirelor în sînge face însă ca rezultate pozitive să fie rar obținute. Sensibilitatea metodei este mult mărită prin folosirea centrifugărilor diferențiale[**]. Prin aceeași tehnică, începînd din a doua săptămînă de boală, pot fi examinate urina și l. c. r.

(ii) *Izolarea* leptospirelor se poate obține prin *însămînțări pe medii artificiale, inoculare la embrionul de găină* pe membrana chorioalantoidă sau în sac amniotic (sînge, l. c. r.) și *inoculare la cobai tineri* (de 200 g), sau hamsteri sugari (pînă la 6 săptămîni), pentru toate produsele (sînge, l. c. r., urină, triturate de rinichi etc. de la cadavre) ;după caz, inoculările se fac i. p. (sînge, l. c. r.), sau s. c. (urină). Pentru a mări șansele de izolare, atît hemoculturile (cîte 3—4 pic. de sînge în cîte 5—6 tuburi cu mediu), cît și inoculările, sînt repetate de 3—4 ori în prima săptămînă de boală.

Cultivarea leptospirelor pe medii artificiale, la izolarea din organism, necesită uneori 4—8 săptămîni. Pentru a constata pozitivarea, la fiecare 3—4 zile, cîte o picătură de mediu (din fiecare tub însămînțat) este examinată la microscop cu fond negru.

În cazul infectării tipice, animalele mor în 1—2 săptămîni cu febră, icter[***], hemoragii. La animalele care nu fac infecții mortale, leptospirele pot fi puse în evidență microscopic și prin hemocultură (sînge din cord). Dacă animalul nu prezintă semne de boală și examene bacteriologice pozitive timp de 3—5 săptămîni, rezultatul inoculării este considerat negativ.

b) **Serodiagnostic.** Anticorpii antileptospira pot fi decelați în serul sanguin cam după o săptămînă de la debutul infecției ; confirmarea diagnosticului de leptospiroză necesită demonstrarea dinamicii ascendente[****] a anticorpilor, pe cel puțin două recolte de ser luate la interval de minimum 7 zile, indiferent de reacția folosită. Cea mai indicată este reacția de fixare a complementului, cu antigen inactivat, cu specificitate de gen *(Sturdza, Nicolescu, Moldovanu)*.

---

[*] 1 ml din soluția anticoagulantă de oxalat de sodiu 1% în tampon *p*H 8 se adaugă la 10 ml sînge.

[**] Centrifugarea sîngelui oxalatat timp de 15 min, la 500 rotații pe min, cu examinare pe fond negru a supranatantului ; dacă rezultatul este negativ, supranatantul este recentrifugat 20 min, la 10 000 rotații pe min și este examinat sedimentul.

[***] Pentru a observa icterul, se recomandă inocularea la cobai albi.

[****] Creșterea titrului de cel puțin 4 ori în al doilea ser recoltat la interval de minimum 7 zile.

SENSIBILITATEA LA ANTIBIOTICE, TERAPIE

Leptospirele sînt natural sensibile la practic toate A; nu se cunoaşte existenţa de tulpini cu rezistenţă dobîndită. Eficienţa în terapie este în raport de precocitatea administrării antibioticului; dă rezultate bune în terapia precoce. În faza organotropă, rezultatele sînt mai puţin bune, ceea ce s-ar explica şi prin persistenţa intracelulară a leptospirelor, greu accesibile A-lor; se preconizează doze mari şi chiar asociaţia penicilină-streptomicină. În fază bacteriemică, terapia antibacteriană, prin leptospiroliză cu mare eliberare de ,,endotoxină'', expune la riscul apariţiei fenomenelor patologice consecutive, şoc ,,endotoxinic'', necesitînd prevenirea lor prin terapie adecvată (v. cap. XX).

PROFILAXIE

Rezervorul de leptospire în natură fiind reprezentat de şobolani şi şoareci mai ales, măsura cea mai eficientă de profilaxie este aplicarea sistematică a deratizării în abatoare şi orice alte depozite de alimente şi furaje, în mine, în sistemul de canalizare, în spitale, cantine, ,,depozitele de gunoi'', crescătorii de porci etc.

Vaccinurile antileptospirotice sînt înalt imunogene (leptospire inactivate prin diferite metode, sînt foarte antigenice: hamsteri imunizaţi rezistă la mii de DL_{50} serotip omolog); s-a constatat şi o protecţie, mai redusă, intertipuri. Vaccinarea este utilizată în unele ţări în sector veterinar şi experimentată la om; vaccinarea ar fi necesară la anumite grupe de risc, muncitori în medii contaminate de şobolani (orezării, crescătorii de porci, canalizare).

BIBLIOGRAFIE

1. BARBIER P., LATASTE-DOROLLE C., RYTER A.: Ictère à répétition et leptospirose. Importance d'un rappel anamnestique bataviae. *Presse Med.*, *78*, 7, 307–310, 1970.
2. DUCA E., ZAVATE O: Valoarea antigenică a leptospirei *bataviae* înactivată prin Ag^+. *Rev. Med. Chir.* Iaşi, nr 1 151–154, 1962.
3. FONVAL F., MAILLOUX M.: Présence d'anticorps anti-leptospires chez les indiens Cuiva des savanes vénézuéliennes. *Méd. Malad. Infect.*, 7, 1, 39–41, 1977.
4. GAD A., WILLEN R., FURUGARD K., FORS S., HRADSKY M.: Intestinal spirochaetosis as a cause of longstanding diarrhoeae. *Upsala J. Med. Sci.*, *82*, 49–54, 1977.
5. MAILLOUX M.: Comparaison des techniques de diagnostic sérologique des leptospires à l'aide d'antigenes vivants et tués. *Med. Malad. Infect.*, *4*, 459–460, 1974.
6. MAILLOUX M., BARNIER A.: Vaccination antileptospirose. Son intérét chez certaines catégories socio-professionelles. *Méd. Malad. Infect.*, *6*, 4, 142–146, 1976.
7. MEERS D. M., DIAZ V. M. V.: Selective isolation of leptospiras from contaminated material by incorporation of neomycin to culture media. *Appl. Microbiol.*, *25*, p. 781, 1973.

8. SHENBERG E., TORTEN M. : A new leptospiral vaccine for man's use l. Development of a vaccine from *Leptospira* grown on a chimically defined medium. *J. Infect. Dis., 128*, 5, 642—651, 1973.

9. SULZER C. R., JONES W. L. : Evaluation of hemagglutination test for human leptospirosis. *Appl. Microbiol., 26*, 5, p. 655, 1973.

10. TEODOROVICI GR., BUZDUGAN I. și colab. : Étude d'un foyer de leptospirose à *L. grippotyphosa* dans une zone sous-karpatique. *Arch. Roum. Path. Exp. Microbiol., 29*, 4, 695—704, 1970.

11. TORTEN M., SHENBERG E. et all. : A new leptospiral vaccine for use in man. 11. Clinical and serological evaluation of a field trial with volunteers, *J. Infect. Dis., 128*,5, 647—651, 1973.

12. * * *: Leptospirose. *Brit. Med. J.*, 3, p. 186, 1972.

13. * * *: Leptospirosis, Leptospira and other spirochaeta. Simp. Inst. Cantacuzino, București, 1975.

14. * * *: Leptospirosis. W. H. O. *Wkly Epidem. Rec.*, 1976 (nr. 187 ; 1977 (nr. 11, 17).

C. GENUL BORRELIA

MORFOLOGIE, STRUCTURĂ, METODE DE EXAMINARE

Boreliile sînt spirochete de 5—25/0,2—0,5 µm, cu 5—10 spire largi (mai largi decît la *Treponema* și *Leptospira*) și foarte regulate (cînd sînt examinate în preparat umed, pe fond negru), care se deformează prin colorare; capete efilate. Se colorează ușor prin colorația Gram și sînt gramnegativ. Colorația de elecție este Giemsa. În preparat umed, la microscop cu fond negru, apar mobile, flexibile, cu mișcări de biciuire, rotație, înșurubare. (La m. e. se vede filamentul axial alcătuit din 15—20 fibrile paralele pe care este înfășurat protoplastul cilindric, ambele învelite de peretele bacterian).

CULTIVARE

Cultivă mai greu decît leptospirele, numai pe medii complexe cu proteine animale, gălbenuș de ou, *p*H 7,2, în anaerobioză strictă, la temp. optimă 28—30°C ; unele pot fi cultivate în lichidul alantoidian al embrionului de găină ; dau septicemii masive la șoarece. Se caracterizează prin metabolism fermentativ, cu producere abundentă de *acid lactic* în sîngele șobolanului infectat și în culturi.

Rezistă bine și pot fi conservate cîteva săptămîni în medii cu ser și în sîngele de șoarece infectat, la frigider (4°) ; se conservă îndelung la — 70°C.

STRUCTURA ANTIGENICĂ

Structura antigenică a speciilor *Borrelia* este foarte variabilă ; se înregistrează frecvente mutații antigenice în timpul aceleiași infecții, dată de o unică tulpină ; ca urmare, în fiecare din puseele febrile în cursul febrei recurente se pot izola mereu alte variante. De aceea, identificarea serologică este de mică valoare pentru diferențierea speciilor *Borrelia*.

Peretele speciilor *Borrelia* conține variate polizaharide plasate superficial și o proteină plasată profund (care dă reacții serologice încrucișate cu specii *Treponema*).

HABITAT, CONTAMINARE, CLASIFICARE

Borrelia sînt bacterii strict parazite, prezente numai în organismul *insectelor-vectoare* (păduche, căpușe, persistînd ani de zile fără să le omoare) și al *bolnavilor* (om, sau păsări, sau rozătoare mici și alte mamifere, cai, bovine, maimuțe).

Există o strictă adaptare a speciilor *Borrelia* la insectele vectoare (artropode hematofage), la rîndul lor geografic adaptate unei, sau unor gazde cu sînge cald pe care se hrănesc și le contaminează prin mușcătură. Această adaptare la gazde diferite a determinat variații importante și de patogenitate. În lipsa altor criterii (speciile *Borrelia* fiind greu cultivabile și foarte variabile antigenic), diferențierea speciilor se face în raport cu artropodul vector și patogenitatea naturală:

(i) **Speciile Borrelia, agenții febrelor recurente la om**, diferențiate în două grupe, după cum sînt transmise de păduche, sau de căpușe (tabel 81):

— *B. recurrentis* (*Obermeyer*, 1868), agentul febrei recurente europene, boală epidemică, este singura specie transmisă de păduche, *Pediculus humanus* (la care bacteria nu se transmite transovarian); boală eradicată odată cu eradicarea păduchelui la om, și

— toate celelalte specii care dau febre recurente, în alte zone geografice, transmise de căpușe *Ornithodoros* (la care spirocheta se transmite transovarian, cauză importantă de întreținere a infecției în natură), au și gazde animale. Febrele recurente transmise de căpușe sînt boli endemice, deoarece căpușele parazitează mai rar omul; datorită vectorului, sînt însă mult mai greu de eradicat; ele nu diferă esențial din punct de vedere clinic de cea transmisă de păduche: letalitatea este mai redusă, 3—5%.

(ii) **Specia tip a genului, B. anserina,** agentul borreliozei, spirochetoze aviare, boală cu paralizii, transmisă de la pasăre la pasăre (gîște, rațe găini, curcani, fazani, canari etc.) de căpușe *Argus*, dar și direct, prin fecale și mușcătura de pasăre (canibalism).

(iii) **Specii Borrelia patogene pentru diferite mamifere** (cai, bovine, maimuțe), sînt transmise în majoritate tot de specii *Orhithodoros*.

FEBRELE RECURENTE

Toate febrele recurente se caracterizează *clinic* prin perioade febrile alternînd cu afebrile (de unde și numele de recurente) și *bacteriologic* prin prezența spirochetelor în sînge, în număr foarte mare, în perioadele febrile și absență (sau număr foarte redus) în perioadele afebrile.

Febra recurentă europeană, prin păduche, este o boală epidemică datorită posibilității de înmulțire și circulație a păduchilor în condiții de promiscui-

Tabelul 81

Specii *Borrelia*, agenţii febrelor recurente, habitat

Specie	Vector	febra recurentă în aria :	alte gazde ale căpuşelor *Ornithodoros*
Borrelia recurrentis	*Pediculus humanus*	europeană	—
,, *hispanica*	*Ornithodoros erraticus*	spaniolă, Africa de Nord (bazin mediteranian)	rozătoare de cîmp şi domestice, reptile, amphibieni, cîini, şacali, vulpi etc.
,, *hermsii*	,, *hermsi*	USA de Vest, Canada	rozătoare.
,, *duttonii*	,, *moubata*	Africa de Sud şi Centrală	?
,, *caucasica*	,, *verrucosus*	Caucaz, Azerbaijan	rozătoare mici.
,, *brasiliensis*	,, *brasiliensis*	Brazilia	animale sălbatice şi domestice, păsări.
,, *parkeri*	,, *parkeri*	USA de vest	rozătoare de vizuină
,, *venezuelensis*	,, *rudis*	Panama şi Nordul Americii de Sud	maimuţe şi rozătoare.
,, *mazzottii*	,, *talaje*	USA de Vest, Mexic, Guatemala	rozătoare, maimuţe.
,, *persica*	,, *tholozani*	Uzbekistan, Kashmir, Cipru, Tripoli	bovine, rozătoare de vizuină
,, *turicatae*	,, *turicata*	USA, Mexic	rozătoare de vizuini şi domestice, reptile.

tate, ca cele create în timp de război ; contaminarea omului are loc ca urmare a strivirii insectei infectate peste locul muşcăturii ; după 3—10 zile, infecţia începe brusc cu frison, febră şi prezenţa borreliilor în număr mare în sîngele periferic (unde au fost puse în evidenţă de *Obermeyer* în 1868). Numărul perioadelor febrile variază între 3—10, durata lor variază de la 3—4 zile iniţial şi devin tot mai scurte şi mai puţin severe spre sfîrşitul bolii şi, invers, în ceea ce priveşte durata perioadelor afebrile : 3—4 zile la început, ajungînd pînă la 10 zile spre sfîrşitul bolii, netratate.

În caz de deces, borreliile sînt puse în evidenţă în toate ţesuturile, mai ales ficat, splină, creier ; în splină, sînt prezente leziuni necrotice miliare ; în rinichi şi în tractusul gastrointestinal, sînt evidente leziuni hemoragice.

Patogenia recăderilor este explicată imunologic : populaţia de borrelii care pătrund prin muşcătură este heterogenă antigenic ; se înmulţeşte mai repede şi induce apariţia de anticorpi varianta care a pătruns în număr maximal ; anticorpii o elimină prin fenomen de borrelioliză (cap. XIX) ; rămîn mutanţii cu structură diferită, care se vor

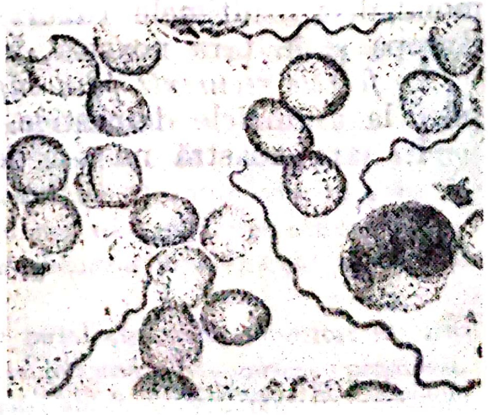


Fig. 136 : Borrelia recurrentis, frotiu din sînge.

înmulți în cîteva zile, dînd un nou puseu febril și noi anticorpi; și așa mai departe, în raport cu numărul de mutanți care apar și sînt selectați de anticorpii incapabili să-i elimine.

Imunitatea este specifică de specie, sau variantă (-e) antigenică (-e); încît, un individ poate face febră recurentă cu mai multe specii, sau variante.

Infecții experimentale pot fi reproduse la șoarece, maimuță, șobolan, cobai.

Febrele recurente prin căpușe sînt mai severe.

DIAGNOSTIC

Diagnosticul este bacteriologic, prin examen direct: punerea în evidență a spirochetelor în frotiu subțire, sau în picătură groasă de sînge, colorat Giemsa; examenul pe fond negru în preparat umed dă de asemenea rezultate bune (fig. 136).

La sfîrșitul perioadelor febrile și în perioadele afebrile, cînd borreliile sînt foarte puține, pot fi evidențiate prin inocularea sîngelui i.p. la șoarecele alb; animalul face în 1—3 zile o septicemie cu prezența borreliilor în sînge.

Reacții serologice sînt uneori necesare în timpul perioadelor afebrile. O reacție de borrelioliză a fost pusă la punct de *N. Constantinescu* și colab., folosind ca antigen sîngele recoltat de la bolnav de febră recurentă, în plină perioadă febrilă. (În timp de epidemie, poate fi recoltat sînge de la bolnavi și, în plasma păstrată la frigider, borreliile rămîn vii luni de zile).

SENSIBILITATE LA ANTIBIOTICE

Speciile *Borrelia* sînt sensibile la peniciline (un milion U/zi) și la antibiotice cu spectru larg. Sînt rezistente la neomicină.

PROFILAXIE, EPIDEMIOLOGIE

Febra recurentă europeană (prin păduche) este considerată o boală eradicată prin deparazitare, odată cu eradicarea și a tifosului exantematic. Succesul eradicării se datorește descoperirii insecticidelor de contact.

Ultima mare epidemie a avut loc în timpul celui de-al doilea război mondial, iar ultimele cazuri de febră recurentă au fost înregistrate în Europa și în țara noastră, în 1948.*

În *febrele recurente prin căpușe*, profilaxia are ca scop reducerea căpușelor la animalele domestice.

În țara noastră nu s-a descris febră recurentă de căpușă.

---

* O.M.S, Rel. épidém. hebd. *34*, 1976: *Cas importé de fièvre recurrente à poux.*

XXXIV. CLASA RICKETTSIAS

Clasa **Rickettsias** include bacteriile obligatoriu intracelulare (b. o. i.). Au structura caracteristică bacteriilor, cu ADN de tip procariot, citoplasmă conţinînd ARN, membrană citoplasmică şi perete rigid, datorită prezenţei peptidoglicanului, cu acid muranic şi diaminopimelic (v. cap. II). Au însă un echipament enzimatic foarte redus, ceea ce le obligă la parazitism obligatoriu intracelular (v. cap. III); se înmulţesc în celule eucariote, prin diviziune ca şi celelalte bacterii, dînd colonii intracelulare numite ,,incluzii''. Cultivă bine în celulele sacului vitelin al oului embrionat de găină, în culturi celulare şi în organismul animalelor receptive de laborator (v. cap. IV). Sînt gram-negativ, dar se colorează mai bine cu coloranţi de tip Giemsa. Sînt sensibile la antibiotice; eficiente în terapie, sînt antibioticele cu bună penetrabilitate intracelulară. Există diferite excepţii de la aceste caracteristici generale: *Rochalimaea quintana* a putut fi cultivată şi pe medii artificiale.

Clasa **Rickettsias** este împărţită în două ordine (tabelul 82) pe baza diferenţelor privind habitat natural, mod de transmitere, patogenitate şi alte caractere:

ordinul *Rickettsiales* include bacterii cocobacilare, care se divid cu formare de perete despărţitor, posedă enzime glicolitice, citocromi, au reacţii metabolice aerobe, generează adenozintrifosfat, nu sînt inhibate de interferon, sînt rezistente la sulfamide; formează incluzii în citoplasmă sau în nucleul celulelor reticuloendoteliale vasculare, determinînd vasculite periferice generalizate, care se traduc clinic prin exanteme (excepţie febra Q dată de *C. burnetii*), multe sînt însă infecţii inaparente; calea majoră de transmitere de la om la om, sau de la animal la animal, este prin artropode, păduche, purice, căpuşe, molii (excepţie *C. burnetii*); exceptînd tifosul exantematic epidemic, rezervorul de rickettsii în natură este animal; pentru căpuşe este demonstrată transmiterea transovariană, de la generaţie la generaţie a rickettsiilor; ca urmare, în cazul speciilor transmise prin căpuşe, rezervorul animal nu este obligatoriu pentru menţinerea parazitismului în natură, căpuşa poate fi unic rezervor pentru aceste specii de rickettsii (v. tabel 83);

ordinul *Chlamydiales* include bacterii cocoide, de dimensiuni diferite, care se divid prin strangulare; nu posedă mecanism de generare a energiei, depinzînd de celula gazdă pentru aportul acesteia; formează numai incluzii intracitoplasmatice, bazofile; sînt inhibate de interferon; unele sînt sensibile la sulfamide (tabel 85); nu sînt transmise prin artropode.

Principii generale de recoltare a produselor pentru diagnosticul microbiologic şi serologic al rickettsiozelor şi chlamidiazelor:

1) În vederea izolării agentului infectant, produsul patologic trebuie recoltat cît mai aproape de debutul bolii, în faza acută, înainte de începerea terapiei antibacteriene; produsele, recoltate aseptic, sînt inoculate imediat, sau congelate şi păstrate la — 70°C pînă în momentul inoculării; dacă în acest scop se foloseşte gheaţa carbonică, produsul va fi închis ermetic pentru a se evita acumularea de CO_2 în concentraţii toxice.

Tabelul 82

Clasa *Rickettsias*, categorii taxonomice care includ specii patogene pentru om

Clasa II	Ordine	Familii	Triburi	Genuri	Nr. de specii
Rickettsias	*Rickettsiales* * (specii transmise de artropode)	*Rickettsiaceae*	*Rickettsiae*	*Rickettsia*	10
				Rochalimaea	1
				Coxiella	1
		Bartonellaceae	—	*Bartonella* **	1
	Chlamydiales (nu sînt transmise de artropode)	*Chlamydiaceae*		*Chlamydia*	2

* Ordinul *Rickettsiales* include și familia *Anaplasmataceae* care cuprinde specii foarte mici, care parazitează eritrocitele unor vertebrate domestice și sălbatice, transmise de la animal, la animal, prin artropode.

** Gen cu o singură specie *Bartonella bacilliformis*, parazit al eritrocitelor, a putut fi cultivată pe medii artificiale; este agentul unei anemii progresive, numită febra de *Oroya*, și a unei erupții cutanate, numită *Verruca peruana*, transmise de specii *Phlebotomus*, evidențiate în America de Sud și Centrală.

2) În vederea serodiagnosticului, primul ser este recoltat în momentul depistării bolnavului, la domiciliu sau la internare, în primele 5–7 zile de la debut (ser precoce), urmat de încă una sau două prize, la intervale de 10 zile (ser tardiv și ser de convalescent).

A. FAMILIA RICKETTSIACEAE

ASPECTE EPIDEMIOLOGICE

În prezent, apar din cînd în cînd pe glob mici focare epidemice de tifos exantematic prin *R. prowazekii*; în 1976 au fost înregistrate $>8\,000$ cazuri, din care 106 mortale, 95% din cazuri în cîteva țări din Africa, restul în America de Sud; în 1977 (pînă în august) au fost raportate 129 cazuri în Peru; rare cazuri sînt raportate uneori în estul Europei. Infecțiile produse de alte rickettsii sînt sporadice (tabel 83). Mai frecventă este azi febra Q dată de *C. burnetii*.

În țara noastră, (i) rickettsioza care a determinat epidemii extinse, mai ales în timpul primului și celui de-al doilea război mondial, a fost *tifosul exantematic*, boală aproape eradicată (ca în cele mai multe țări de pe glob); (ii) cazuri rare de *febră butonoasă (R. conorii)* au fost identificate în Dobrogea, în 1934–1936, legate de prezența căpușei *Rhipicephalus sanguineus* care parazitează iepuri, cîini și accidental omul (păstori, vînători); (iii) în timpul primului război, au fost descrise cazuri de *febră de tranșee (Ro. quintana)*; (iv) au fost și sînt descrise din cînd în cînd mici explozii epidemice de febră Q *(C. burnetii)*.

MORFOLOGIE ȘI COLORABILITATE

Cocobacili mici, de 0,30—0,60/0,8—2,0 µm, izolați, în perechi, sau scurte lanțuri, uneori forme filamentoase, imobili, necapsulați; cu excepția *C. burnetii*, nu se colorează bine prin colorația Gram. Se colorează bipolar, în purpuriu, prin toate tehnicile care folosesc colorant *Giemsa*, tehnici speciale *(Macchiavello, Gracean, Castaneda)*; se văd bine la microscopul optic (fig. 137).

ÎNMULȚIRE

Rickettsiile se înmulțesc prin fisiune binară cu formare de perete despărțitor (fig. 138), formînd incluzii citoplasmatice; *R. rickettsii* și *R. conorii* formează incluzii și în nucleu (fig. 139). *Ro. quintana reprezintă o excepție în sensul că se multiplică și extracelular, iar tulpina Fuller a fost cultivată pe geloză-sînge, mediu bacteriologic fără celule vii.*

SENSIBILITATE LA AGENȚI DE MEDIU EXTERN

În excrete uscate de păduche, purice, căpușe, animale, la temperaturi scăzute, rickettsiile rămîn viabile timp de cîteva luni; pot persista astfel în praful din camerele foștilor bolnavi de tifos exantematic. Cea mai rezistentă este *Coxiella burnetii* care rezistă la temperaturile folosite pentru pasteurizarea laptelui.

Speciile *Rickettsia* sînt omorîte de antiseptice obișnuite: fenol, formol, mertiolat, ca și prin căldură umedă la 56°C, în 30 min. Pot fi conservate prin congelare și prin liofilizare.

SENSIBILITATE LA ANTIBIOTICE

Toate rickettsiaceele sînt natural sensibile la antibiotice cu spectru larg (T, C, Rif.) și la macrolide; sînt natural rezistente la peniciline, streptomicină și la sulfamide.

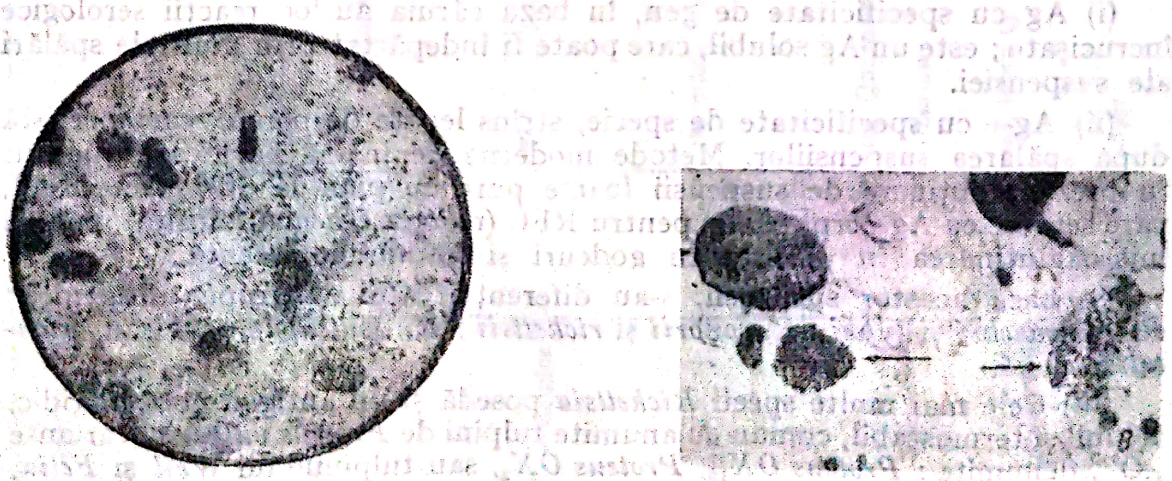


Fig. 137. Rickettsia prowazekii.

A : Frotiu din sac vitelin de ou embrionat intens infectat; număr mare de rickettsii care apar ca mici cocobacili.
B : Frotiu din sac vitelin de ou embrionat infectat; săgețile indică mase intracelulare de rickettsii. Colorație Giemsa (după *Swain R.H.A.* și *Dodds T.C.*, 1967).

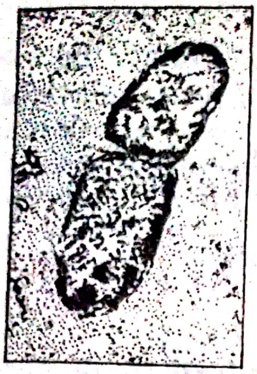


Fig. 138: Secțiune longitudinală a unei forme diplobacilare de *R. quintana* (După *Itas* și *Vinson*; reprodus din *Rhodes* și *Van Rooyen*, 1968).

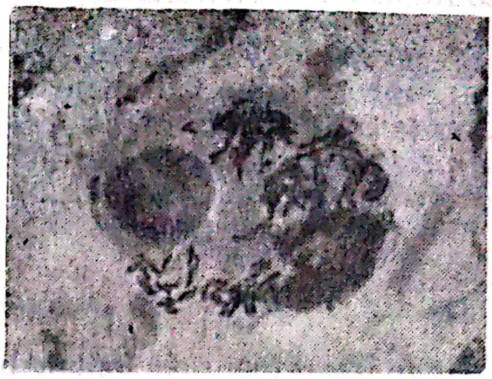


Fig. 139: *Rickettsias* în citoplasma unei celule seroase din tunica vaginalis la cobai (Din *Thompson M.*, 1958).

1. GENUL RICKETTSIA

Genul *Rickettsia* cuprinde zece specii, transmise de la gazdă la gazdă prin artropode hematofage și care dau la om boli eruptive.

STRUCTURA ANTIGENICĂ

a) **Antigene de specificitate.** Au fost puse în evidență antigene de perete cu specificitate de gen, de specie, subspecie și de tulpină, ceea ce demonstrează o mare variație. Fiind necultivabile, studiul antigenic al rickettsiilor este dificil, iar folosirea de suspensii și extracte incomplet purificate ca antigene de diagnostic pretează la erori (numeroase reacții fals pozitive).

(i) Ag cu specificitate de gen, în baza căruia au loc reacții serologice încrucișate; este un Ag solubil, care poate fi îndepărtat prin multiple spălări ale suspensiei.

(ii) Ag-e cu specificitate de specie, strîns legate de perete, care persistă după spălarea suspensiilor. Metode moderne de înaltă purificare* permit în prezent obținere de suspensii foarte pure cu pînă la 10^{10} bacterii/ml, care servesc ca Ag corpuscular pentru RFC (reacția cea mai folosită), pentru microaglutinarea în plăcuțe cu godeuri și imunofluorescență.

Pe baza acestor suspensii, s-au diferențiat trei subgrupe antigenice: *R. prowazekii* și *typhi*; *R. conorii* și *rickettsii*; *R. tsutsugamushi* (sau *orientalis*).

(iii) Cele mai multe specii *Rickettsia* posedă și un antigen polizaharidic, solubil și termostabil, comun cu anumite tulpini de *Proteus vulgaris*, variante „O", denumite: *Proteus* OX_{19}, *Proteus* OX_2, sau tulpinile lui *Weil* și *Felix*,

---

* Aceste metode de preparare a antigenului au înlocuit metoda *Giroud* care permitea multe reacții fals pozitive (*Edlinger*, 1976).

Rickettsiales, **proprietăți majore** *Tabelul 83*

Genul	Bolile			Specia	Rezervor	Vector	Modalități obișnuite de contaminare a omului
Rickettsia * (febre exantematice)	epidemice:	tifos exantematic:		*R. prowazekii*	om	păduche: *P. corporis*, *P. capitis*	excrete de păduche pătrunse prin leziuni de grataj și înțepături; aerosoli pe conjunctivă și inhalații;
	endemice	tifos murin:		*R. typhi* (mooseri)	șobolani	purice de șobolan: *X. cheopis*	excrete de purice pătrunse prin leziuni ale pielii, înțepături;
		febre butonoase	f. pătată	*R. canada*	căpușe (?)	căpușe: *H. leporis palustris*	mușcătură de căpușe
			f. butonoasă:	*R. conorii*	căpușe, rozătoare, cîini	căpușe de cîine: *Rh. sanguineus*, *Rh. simus*, *A. variegatum*, *H. ileachi*.	mușcătura de căpușe
			f. butonoasă a Munților Stîncoși:	*R. rickettsii*	căpușe, rozătoare, cîini	căpușe de cîine: *D. andersoni*, *D. americanum*, *H. leporis palustris*, *Rh. sanguineus*.	mușcătura de căpușe
			f. variceliformă:	*R. akari*	șoareci	acarieni: *Al. sanguineus*	mușcătura acarianului
		tifos oriental	de mărăciniș:	*R. tsutsugamushi*	acarieni, șoareci de casă	acarieni paraziți pe șoareci de casă: *T. akamushi*, *T. deliensis*, *T. pallida*, *T. scutellaris*.	mușcătura acarianului
			de Queensland:	*R. australis*	căpușe (?)	căpușe: *Ix. holocyclus*	mușcătura de căpușe
			siberian:	*R. sibirica*	căpușe, șoareci, bovine	căpușe: *D. nutali*, *H. concina*.	mușcătura de căpușe
***Coxiella*:** (febră fără erupție)	endemică-epidemică:	tifos pulmonar, febra Q:		*Cox. burnetii*	căpușe, mamifere (bovine, ovine, caprine, rozătoare)	căpușe: numeroase specii	inhalare de aerosoli
Rochalimaea	,,	febra de tranșee:		*Ro. quintana*	om	păduche: *P. corporis*	excrete de păduche pătrunse prin leziuni de grataj și înțepături; aerosoli pe conjunctivă și inhalații.
Bartonella	,,	febra de Oroya **:		*B. bacilliformis*	om (?)	*Ph. verrucarum*	Înțepătură de Phlebotomus

* Specia *R. parkeri* nu a fost găsită la om. ** Nu a fost identificată în Europa.

P. = *Pediculus*; X. = *Xenopsylla*; H. = *Haemaphysalis*; Rh. = *Rhipicephalus*; A. = *Amblyoma*; D. = *Dermacentor*; Ix. = *Ixodes*; T. = *Trombicula*; Al. = *Allodermanisus*; Ph. = *Phlebotomus*.

și *Proteus OXK*; ca urmare, serurile de bolnav aglutinează suspensii de *Proteus* (v. tabelul 84); pînă la cultivarea și prepararea antigenelor din suspensii de rickettsii, aglutinarea suspensiilor de *P. vulgaris*, numită și *reacția Weil-Felix*, a fost singura folosită în serodiagnosticul rickettsiozelor deși dă multe reacții fals pozitive; este folosită și azi în lipsa antigenelor *Rickettsia*; efectuată în dinamică, pe două seruri, este încă valoroasă.

(iv) Rickettsiile posedă și un polizaharid de perete, numit și ,,factor de sensibilizare a eritrocitelor'', datorită căruia se adsorb pe eritrocite de oaie, acestea fiind aglutinate de serul de bolnav; acest test de hemaglutinare pasivă nu are specificitate de specie.

b) **Factori de patogenitate.** Odată introduse în organism pe cale sanguină, datorită probabil unor (i) receptori specifici, rickettsiile se atașează și pătrund în citoplasma celulelor endoteliale vasculare unde se înmulțesc determinînd vasculită; (ii) posedă și ,,endotoxine'', încă insuficient studiate; dar, cultivate în sac vitelin și inoculate i. v., rickettsiile omoară cobaiul, șobolanul și șoarecele, în cîteva ore, cu congestia viscerelor.

IMUNITATE

Imunitatea în rickettsioze este umorală și celulară. Complementul în prezența imunoglobulinelor serice este bactericid față de rickettsiile eliberate în umori, iar factorii imunității mediate de celule (IMC) îngrădesc și sterilizează cel mai adesea focarele infecțioase, cu rickettsii intracelulare. Imunitatea poate fi indusă prin vaccinare; au fost folosite vaccinuri inactivate prin formolizare, preparate din sac vitelin, cît și vaccinuri vii-atenuate.

RICKETTSIA PROWAZEKII ȘI TIFOSUL EXANTEMATIC

Se descrie tifosul exantematic primar și tifosul de recădere sau boala Brill.

(i) **Tifosul exantematic primar** epidemic sau ,,european'' (datorită marilor epidemii și persistenței îndelungate în Europa) este determinat de *R. prowazekii*, cu rezervor exclusiv uman. *R. prowazekii* este transmisă de la om la om prin păduchele de corp și de cap. Apărea cel mai adesea în mari epidemii, însoțind războiul și foametea, boală a mizeriei, sărăciei, lipsei de igienă, condiții care favorizează infestarea cu păduchi; a fost practic eradicat odată cu păduchii de corp și de cap.

Contaminare. Păduchele se încarcă cu rickettsii hrănindu-se pe bolnavi în stadiu de rickettsiemie; rickettsiile se fixează în celulele epiteliului intestinal al păduchelui, se înmulțesc intens, celulele se necrozează, se rup și elimină conținutul în lumenul intestinal, de unde, prin dejecte, rickettsiile sînt depuse pe tegumente; păduchele devine infecțios după 10 zile de la prînzul infectant; în scurt timp, lumenul intestinului se obstruează și insecta moare. Rickettsiile nu se transmit descendenților prin ou; ca urmare, *păduchele nu constituie un rezervor permanent* în natură; reala sursă de infecție este omul cu infecție inaparentă, sau boală.

Ajunse pe tegumentele persoanelor receptive, neimunizate (prin dejecte sau eliberate prin strivirea păduchelui), rickettsiile pătrund în țesuturi prin leziunile de grataj, sau înțepăturile insectelor. Alte posibilități de contaminare constau în pătrunderea rickettsiilor prin conjunctivă, sau prin inhalare de praf încărcat cu dejecte uscate de păduche, mecanism care explică apariția de cazuri sporadice și chiar de mici explozii epidemice la persoane neinfestate cu păduchi.

Patogenitate. R. prowazekii se comportă ca bacterie *virulentă* (invadantă) și *sensibilizantă.* Ajunsă în circulație, pătrunde și se înmulțește intens în celulele endoteliale care tapisează vasele mici, le necrozează, se elimină în sînge și contaminează alte celule; stadiul de rickettsiemie durează cam 10 zile.

În jurul celulelor infectate și lezate, în capilare, arteriole, venule, endo- și perivascular, se acumulează macrofage și limfocite (factorii IMC) formînd microfocare de infiltrație monocitară („nodulii tifici" sau *Fraenkel*). Pînă la instalarea imunității, rickettsiile se înmulțesc masiv și în macrofag. Microscopic, în aceste focare se observă transformări active plasmo- și limfoblastice, diferențiere de macrofage mari, ceea ce demonstrează o puternică activitate imunologică de tip celular. Ca urmare, are loc formare de trombi pe intima vaselor, trombozarea micilor artere și vene, necroze cauzînd micro- și macro-infarcte care se traduc prin hemoragii și peteșii. Leziunile vasculare sînt diseminate, practic pretutindeni, în piele, conjunctivă, sistem nervos central, miocard, ganglioni, rinichi, mușchi scheletic etc., determinînd simptomatologia severă caracteristică bolii. Tabloul patologic este similar în majoritatea rickettsiozelor.

Tifosul exantematic poate afecta toate vîrstele, dar este mai blînd sub 15 ani și mult mai sever la vîrstnici (datorită marii sensibilizări la „endotoxină" sau la alte antigene comune cu specii prezente constant în intestin, ca *Proteus*). *R. prowazekii* determină și infecții inaparente mai ales la copii (încă puțin sensibilizați la antigene comune?); copiii cu infecții inaparente *reprezintă surse necunoscute de tifos exantematic.* La tineri de 20—30 ani, boala îmbracă forme ușoare, letalitate 10—12%; la persoane peste 50 ani, letalitatea ajunge la 60%.

Evoluția bolii este mai gravă la subnutriți, persoane expuse la efort prelungit, frig etc.; boala se poate complica cu alte infecții bacteriene dînd bronhopneumonii.

Imunitatea este solidă și se însoțește de persistența Ig-lor și pozitivarea testului intradermic de sensibilizare tip celular.

(ii) **Tifosul de recădere sau boala** *Brill.* IMC nu realizează sterilizarea completă bacteriologică a organismului în 100% din cazuri. La un mic procent din foștii bolnavi, *netratați cu antibiotice*, rickettsii viabile pot persista în unele focare tisulare, bine izolate (ca în sifilis), ca infecție latentă. Uneori, după ani de zile de la infecție (6—40 ani), rickettsii din focarul asimptomatic latent reinvadează organismul pe cale limfatică și sanguină, cu manifestare clinică, „tifosul de recădere sau boala lui Brill-Zinsser". Astfel de reactivări apar în perioade de stress și se pot datora unor anergii de diferite cauze, tranzitorii, cu deficiență a IMC și IU, ceea ce reiese din faptul că în boala Brill pozitivarea reacțiilor serologice nu are loc la toți bolnavii, iar titrurile anticorpilor sînt scăzute. Tifosul de recădere este deci o boală a vîrstnicilor care au făcut tifosul exantematic primar înaintea erei antibioticelor.

Întreținerea rezervorului de R. prowazekii în natură. În teritorii în care mai există păduchi, aceștia se pot infecta atît în timpul bolii de recădere, dar și, întîmplător, în timpul micilor revăsări asimptomatice de rickettsii în sînge (care au uneori loc la acești purtători sănătoși). Păduchii astfel infectați pot genera boala, dar și infecții inaparente, mai ales la copii, care, netratate, pot rămîne latente; se instituie astfel rezervorul necunoscut de rickettsii.

Prin această modalitate este asigurată în prezent transmiterea de la om la om a rickettsiilor tifosului exantematic, mai ales în vechile focare epidemice; traficul actual le poate duce oriunde pe glob. Prin scăderea prevalenței populației imune (cu trecerea timpului), acest rezervor ar putea genera noi izbucniri epidemice, dacă survine infestarea cu păduche.

Diagnosticul este microbiologic și serologic.

Diagnosticul microbiologic (vezi recoltarea produselor în introducere). Pentru izolarea *R. prowazekii*, atît în tifosul primar, cît și în boala Brill, sîngele recoltat în perioada febrilă este inoculat, ca atare, la patul bolnavului (sau cheag majorat), în peritoneul a doi cobai masculi. Cobaii fac, fie o infecție inaparentă, fie o ascensiune febrilă după 10—12 zile, care durează 4—8 zile, și se vindecă. În perioada febrilă, rickettsiile sînt prezente în sînge, organe, în special creier, splină, glande suprarenale; tulpina astfel izolată poate fi întreținută pentru a fi studiată pe cobai, prin pasaj de creier sau sînge, pe embrion de găină sau culturi celulare.

Serodiagnosticul. În tifosul primar, reacția Weil-Felix se pozitivează din a doua săptămînă de boală la titruri semnificative, 1/100, pentru a atinge spre a 16-a zi, 1/6.400—1/20.000, titruri care scad treptat pînă la anulare după 3—4 luni. Reacția cantitativă de fixare a C′ cu antigen *R. prowazekii* se pozitivează după 5—7 zile de la debutul bolii și atinge titrul maxim după 12—16 zile (1/1.000 și mai mult); Ac. scad apoi lent, persistînd la titruri mici ani de zile.

În tifosul de recădere, reacția Weil-Felix este pozitivă numai în aproximativ 20% din cazuri, la titruri care nu prea depășesc 1/80 (tabel 84); testele de fixare a C′ și microaglutinare cu antigen *R. prowazekii* sînt pozitive aproape întotdeauna, dar la titruri mai mici decît în infecția primară. De aceea, avînd în vedere că la foștii bolnavi anticorpii FC′ pot persista mult timp, este necesară o mare atenție în interpretarea SD de boală Brill: semnificativă este numai creșterea titrului de cel puțin patru ori în serul recoltat în convalescență față de serul recoltat la debutul bolii. Există demonstrații că spre deosebire de anticorpii fixatori de C′ care în perioada de stare a tifosului primar sînt de tip IgM, în tifosul de recădere sînt IgG, ceea ce ar permite diferențierea celor două boli*.

Profilaxie. *Deparazitarea* și igiena corporală întrerup orice posibilitate de transmitere a tifosului exantematic. Confirmarea unui caz de tifos exantematic de primoinfecție, sau de recădere, obligă la anchetă minuțioasă din casă în casă pentru depistarea stării de parazitare, procedîndu-se sistematic la deparazitare cu insecticide de contact de tip DDT, lindan (efect insecticid timp de două săptămîni). A fost demonstrată apariția de tulpini

---

* Încălzirea serului la 60°C, sau tratarea cu 2-mercaptoetanol, suprimă IgM.

Tabelul 84

Reacţiile de fixare a C′ şi Weil-Felix în rickettsioze

Grup	Boala	Reacţii de fixare a C′			Aglutinare Weil-Felix		
		Antigene de grup			Tulpini Proteus		
		tifos	RMSF	febră Q	OX_{19}	OX_2	OXK
I	Tifos epidemic primar	+++	0	0	+++	+	0
	Boala Brill-Zinsser	+++	0	0	0 sau +++	0	0
	Tifos murin	+++	0	0	+++	+	0
II	RMSF	0	+++	0	+++	+++	0
	Tifos de căpuşă	0	+++	0	+++	+++	0
	Rickettsial pox	0	+++	0	0	0	0
III	Febra tsutsugamushi	0	0	0	0	0	+++
	Febra Q	0	0	+++	0	0	0

RMSF = Rocky Mountain Spotted fever (febra pătată a Munţilor Stîncoşi) (după E. M. Murray în P. H. Hoeprich, 1972).

de păduchi rezistenţi la DDT, dar prin întreruperea folosirii insecticidului o perioadă de timp (prin înlocuire), sensibilitatea păduchilor revine.

Vaccinarea se practică numai la persoane care lucrează în laboratoare de profil. S-au preparat *vaccinuri inactivate*, din sac vitelin de embrioni de găină infectaţi cu *R. prowazekii*, şi *vaccinuri vii atenuate* care par să dea rezultate mai bune (dar ar putea constitui şi rezervor de infecţie?) ; administrate intramuscular dau o uşoară înmulţire locală, fără să producă invazii ; anticorpii neutralizanţi persistă un an, în medie.

Chimioprofilaxia este foarte eficientă (contaminare posibilă prin păduche, sau de laborator etc.).

RICKETTSIA TYPHI (MOOSERI) ŞI TIFOSUL MURIN, ENDEMIC

Apariţia tifosului murin este legată de prezenţa şobolanilor infectaţi de la care *R. typhi* poate fi transmisă la om prin purice. Este o boală asemănătoare tifosului exantematic epidemic, dar mai blîndă ; datorită rezervorului animal, poate apărea ca endemică.

2. GENUL ROCHALIMAEA

Genul *Rochalimaea* are o singură specie, *Ro. quintana*, agentul febrei de transee, transmisă de păduchele de corp (fig. 140). Diferă de celelalte rickettsii prin structura antigenică (posedă Ag specifici de specie) şi prin aceea că a putut fi cultivată şi *in vitro*, pe medii artificiale bogate, gelozăsînge (cu hematii lizate de cal), incubate aerob cu 5—10% CO_2, la 37° ; coloniile apar în 12—14 zile şi sînt foarte mici (0,05—0,1 mm Ø).

Febra de transee a fost pusă în evidenţă în Europa, în Tunisia, Mexic ; cîteva cazuri au fost identificate la noi în ţară în primul război mondial.

3. GENUL COXIELLA

Genul *Coxiella* conține o singură specie, *C. burnetii*, agentul febrei Q*, boală sistemică, fără erupție, acută, manifestată cel mai adesea prin pneumonie, cu opacități radiologice multiple, numit și tifos pulmonar, adesea cu implicare pleurală (spre deosebire de PAP** prin mycoplasme); letalitatea este redusă. Vindecarea are loc de cele mai multe ori; mai rar o stare subfebrilă poate persista 2—3 luni, cu bacteriemii, putînd apărea complicații ca hepatite, nefrite, miocardite. Multe infecții evoluează inaparent; existența lor a fost confirmată și prin posibilitatea de transmitere a infecției prin transfuzie (W. E. R., OMS, nr. 24, 1977) și diagnosticarea de endocardite.

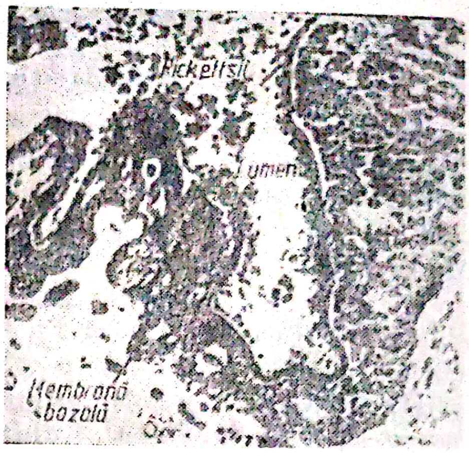


Fig. 140: Epiteliu de intestin de păduche (*Pediculus humanus*) infectat cu *R. quintana*. *Ito* și *Vinson*, 1965; reprodus din *Rhodes* și *Van Rooyen*, 1968).

Rezervor natural. Este o infecție enzootică a bovinelor, ovinelor, caprinelor și rozătoarelor sălbatice, inclusiv iepuri, la care este întreținută de *peste 40 specii de căpușe.*

C. burnetii se înmulțește în căpușă și *se transmite prin ou descendenților,* se elimină prin fecale și este transmisă la animale prin înțepătura insectei. În fermele de bovine în care există febra Q, 1% pînă la 10%, excepțional 50% din efectiv este infectat; oile și caprele sînt mai rar infectate. Animalele elimină agentul în cantitate enormă prin toate excretele, placentă, secreții uterine în timpul fătărilor și avorturilor, fecale, urină, lapte. Are o mare rezistență la uscăciune rămînînd infectantă timp de mai multe luni în dejectele de căpușă, uscate și fixate în blana animalelor, încît pot fi transportate la distanțe mari odată cu pielea și lîna animalelor din zone infectate, ocazionînd infecții cu caracter profesional. Rezistă la temperaturi de pasteurizare a laptelui.

Contaminarea omului. Omul se contaminează prin inhalare de aerosoli de excrete și secreții proaspete de la animale infectate, mai ales în sezonul fătărilor; contaminarea prin lapte crud este de asemenea posibilă. Contaminarea poate avea loc și la distanță, prin inhalare de praf de lînă provenită din ferme intens contaminate, prin lapte. Apare mai ales ca boală profesională la lucrătorii din ferme și abatoare, veterinari, la acei care prelucrează lîna etc. În țara noastră au fost și sînt descrise mici explozii epidemice de febra Q, din cînd în cînd.

Ciclul infecției în natură: rozătoare sălbatice — căpușe — mamifere domestice — om.

---

* De la numirea dată inițial *„query fever"* = febră necunoscută, descrisă în Australia, în 1933.

** Pneumonia atipică primară.

DIAGNOSTICUL ESTE MICROBIOLOGIC ŞI SEROLOGIC

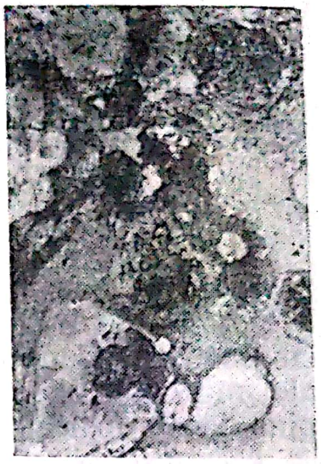


Fig. 141: *R. burnetii*, frotiu din splină de cobai.

Izolarea C. burnetii se face din sînge recoltat în perioada febrilă, prin inoculare la cobai, şoarece, hamster, sau la embrion de găină. Cobaiul face o scurtă perioadă febrilă şi în ser apar Ac fixatori de complement. Oul embrionat de 5—6 zile este inoculat cu 0,5 ml sînge, în sac vitelin, şi se continuă incubarea la 35°C încă 4—5 zile. Rickettsiile pot fi uşor văzute în frotiuri din sac vitelin colorate Giemsa, Machiavello, Gracean (fig. 141) sau Gram.

C. burnetii este singura rickettsie care prezintă variaţie de fază (similar variaţiei S-R). În natură este numai în faza I; prin adaptare la ou embrionat trece în faza II, care poate fi convertită în faza I prin treceri pe animal. Variaţia ţine de alternarea a două antigene majore şi se manifestă prin modificări de densitate, aglutinabilitate, colorabilitate, virulenţă.

Diagnosticul serologic, prin RFC, foloseşte un atigen preparat din tulpină în faza II* adaptată la ou embrionat. Anticorpii de fază II apar din a 7-a zi de boală (1/20), ajung repede la 1/64—1/1 000, titruri la care se menţin cîteva luni; descreşterea este lentă. Reacţia Weil-Felix este negativă (tabel 84).

TRATAMENT

Tratamentul cu tetracicline dă foarte bune rezultate.

BIBLIOGRAFIE

1. BREZINA R., MURRAY E.S., TARIZZO M.L. BÖGEL K.: Rickettsiae and rickettsial diseases: *Bull. Wtto*, 49, 433—442, 1973.
2. BUŞILĂ V. I. şi colab.: Dinamica anticorpilor fixatori de complement în febra Q. *Microbiol. Parazitol. Epidemiol.*, 6, p. 491, 1972.
3. CRĂCEA E. şi colab.: Date actuale în epidemiologia şi diagnosticul febrei Q. *Microbiol. Parazitol. Epidemiol.*, 5, p. 395, 1972.
4. DATHAN J. R. E., REYWORTH M. F.: Glomerulonephritis associated with *Coxiella burnetii* endocarditis. *Brit. Med. J.*, 1, 376—377.
5. EDLINGER E.: Possibilités et limites de la sérologie dans les Rickettsioses. *Méd. Malad. Infect.*, 6, 4, 138—141, 1976.
6. ORMBBER R. A.: Rickettsial diseases. A public health problem? *J. Infect. Dis.*, 127, 3, p. 325, 1973.
7. PIRON R. et all.: Aspects actuels des rickettsioses. *Méd. Malad. Infect.*, 7, 4, p. 209, 1977.
8. VARELA G., FOURNIER R., MOOSER H.: Presencia de *Rickettsia quintana* en piojos *Pediculus humanus* en la Ciudad de Mexico. *Rev. Inst. Salub. enferm. trop.*, 14, 39, 1954.
9. VINSON J. W., CAMPBELL E. S.: Complement fixing antigen from *Rickettsia quintana*. *Acta Virol.*, 12, 54—57, 1968.
10. * * *: Q Fever. W. H. O. *Wkly Epid. Rec.*, nr. 24, p. 200, 1977.
11. * * *: Typhus à poux. W. H. O. *Wkly Epid. Rec.*, 1977 (nr. 27, 30, 32).

---

* Anticorpii fixatori faţă de antigenul de faza I au mică importanţă în diagnosticul febrei Q la om deoarece indică o infecţie în antecedente sau o infecţie prezentă persistentă.

B. FAMILIA CHLAMYDIACEAE, GENUL CHLAMYDIA

Bacteriile numite anterior „virusuri" bazofile, sau PLT (psitacoză-limfogranulomatoză-trahom), și care erau încadrate în trei genuri *Chlamydia* (agenții trahomului și conjunctivitei cu incluzii, sau agenții TRIC), *Miyagawanella* (agenții limfogranulomului venerian sau LGV) și *Bedsonia* (grupul psitacoză-ornitoză), sînt încadrate astăzi, toate, în genul *Chlamydia* cu două specii.

Genul *Chlamydia* are două specii:

Ch. trachomatis, întîlnită numai la om, este agentul unor infecții, ale conjunctivei (conjunctivita cu incluzii care poate evolua pînă la trahom), ale mucoasei genitale (uretrita și cervicita cu incluzii care poate evolua pînă la limfogranulom); se transmite prin mîini murdare și venerian;

Ch. psittaci, patogen pentru numeroase vertebrate la care dă infecții sistemice, cu manifestări pulmonare mai ales, transmisibile omului prin praf și contact cu animale bolnave, boli denumite psitacoză de la papagal, ornitoză de la alte păsări.

MORFOLOGIE ȘI COLORABILITATE

Ambele sînt bacterii cocoide, de 0,25—1,0 μm Ø, gram-negativ. Se înmulțesc în citoplasmă și dau microcolonii (incluzii) care se colorează cu Giemsa în albastru, bazofil, aspect patognomonic pentru diagnosticul de infecții cu *Chlamydia*: cu aspect granular, de morulă, incluziile date de *Ch. trachomatis* fiind compacte, cele de *Ch. psittaci* fiind mai difuze (tabel 85).

Tabelul 85

Unele caractere diferențiale ale speciilor *Chlamydia*

	forma incluziei	prezența matricei de carbohidrat (probabil glicogen) în jurul incluziei	Sensibilitate naturală la:		Eficiența D-alaninei în antagonizarea D-cicloserinei
			sulfadiazin	D-cicloserin	
Ch. trachomatis	compactă	+	+	+++	+
Ch. psittaci	difuză	–	–	+	+++

În frotiuri preparate din exsudate și în citoplasma celulei în care este prezentă incluzia, pot fi văzute și bacterii libere, gram-negativ (fig. 142).

Incluziile sînt ușor vizualizate prin (i) colorație imunofluorescentă, (ii) colorație Giemsa și (iii) colorarea matricei de carbohidrat (glicogen) cu soluție iod-iodură de potasiu, după fixare cu metanol.

DEZVOLTAREA INTRACELULARĂ

Ca urmare a contaminării (inoculării), chlamydiile ajunse în contact cu membranele celulelor receptive sînt încorporate într-o învaginare a membranei, printr-un mecanism asemănător fagocitozei. În această vezi-

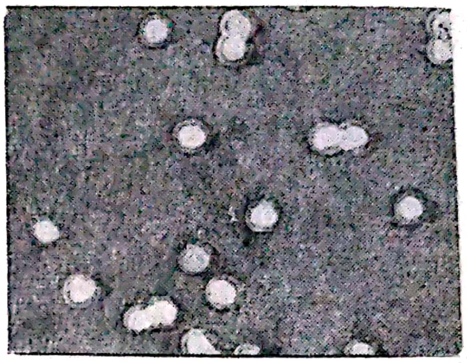


Fig. 142: Forme mici cu centru dens de *Chlamydia psittaci* × 18 500 (După *Tamura* și *Higashi*; reprodus din *Storz J.*, 1971).

culă are loc înmulțirea; după o perioadă de lag care durează în medie 20 ore, bacteria crește, 0,8—1,0 μm Ø, și se divide prin strangulare cu formarea a două bacterii fiice identice; perioada de diviziune activă durează circa 20 ore și duce la formarea „incluziei": microcolonie intracitoplasmatică, lîngă nucleu, cu diametrul de cîțiva microni, de forme diferite. „Incluzia" este înconjurată de o „matrice" în care, la *Ch. trachomatis*, poate fi pus în evidență în mod constant glicogenul. Din colonie, indivizii bacterieni („corpusculii elementari") sînt eliberați în citoplasmă, iar într-o ultimă fază, membrana celulei se rupe și chlamidiile sînt eliberate extracelular, capabile să infecteze noi celule. (În timpul procesului de înmulțire, pot fi văzute forme cocoide mari, 0,8 μm Ø, precedînd diviziunea, forme cocobacilare și de halteră, în timpul diviziunii, și corpusculi cocoizi mici reprezentați de celulele-fiice rezultate).

Chlamydiile utilizează pentru metabolismul propriu, independent de al celulei gazdă, substanțe prezente în citoplasma acesteia și sintetizează produse care nu pot fi sintetizate de celule-gazdă: acid folic, lizină, acid muramic; celula gazdă furnizează energia necesară proceselor de biosinteză (s-a sugerat termenul de „parazit din punct de vedere al energiei").

Ch. trachomatis induce producere de interferon* de către celulele organismului și culturi celulare parazitate; titrul maxim anti-*Chlamydia* este atins în ser după 24—30 ore de la inocularea șoarecelui, de exemplu.

CULTIVARE

Parazite obligator intracelulare, chlamidiile pot fi izolate prin metodele folosite pentru rickettsii și virusuri, inoculare pe:

— culturi de celule pulmonare de embrion de șoarece, celule de linie HeLa, L (fibroblaști pulmonari);

— la embrion de găină, în sac vitelin, dezvoltîndu-se în celulele endoteliale ale sacului vitelin;

— la șoarece de 3 săptămîni, intraperitoneal.

STRUCTURĂ ANTIGENICĂ

(i) *Antigene de specificitate*; chlamydiile au antigene de perete:

— Ag specific de gen, *Chlamydia*, comun celor două specii; probabil complex glucidolipoproteic, stabil la fierbere, rezistent la tripsină și pepsină, solubil în eter și dezoxicholat de sodiu, distrus de periodat de potasiu și lecitinază, fixator de C; a fost descrisă și o hemaglutinină solubilă cu specificitate de gen;

---

* *Interferonii* sînt o clasă de proteine sintetizată de celulele infectate cu virusuri, sau la contact cu acizi nucleici străini, în special ARN dubluspiral, și care induc, prin intermediul unei alte proteine — proteina inhibitor a translației —, starea antivirală a celulelor, atît față de virusul inductor, cît și față de alte virusuri (v. partea a V-a).

— Ag specifice de specie, *Ch. trachomatis* și *Ch. psittaci*, par să fie haptene lipidice legate de o proteină, în general rezistente la eter, dezoxicholat de sodiu, tripsină, distruse la 60°C; prin îndepărtarea Ag-ului de gen cu dezoxicholat, poate fi pus în evidență Ag de specie care este rezistent, aspect important pentru serodiagnostic;

— Ag specifice de tulpină, au fost de asemenea descrise; în baza lor, *Wang* și colab. au diferențiat pentru *Ch. trachomatis* 12 serotipuri (A, B, Ba, C, → K), ca și 3 serotipuri speciale LGV (LGV_1, LGV_2, LGV_3).

(ii) *Factori de patogenitate*; la unele tulpini au fost separate fracțiuni lipopolizaharidice, LPS, cu acțiuni patologice experimentale similare „endotoxinei" bacililor gram-negativ (culturi în sac vitelin, inoculate i. v. omoară rapid șoarecele, producînd alterări de endoteliu vascular).

Nu a putut fi izolată toxină solubilă.

Nu este cunoscut factorul de tropism special al acestor bacterii pentru celulele în care se înmulțesc, pe care le infectează.

SENSIBILITATEA LA A. ȘI CH.

Chlamydiile sînt *natural sensibile* la A. cu spectru larg și macrolide; sînt sensibile în grade diferite la peniciline; sensibilitatea la cicloserină și sulfamidă diferă pentru cele două specii (*Ch. trachomatis* sintetizează acid folic din acid PAB, glutamină, pteridină și este natural sensibil la Su, *Ch. psittaci* este rezistentă) (v. tabelul 85); sînt *natural rezistente* la streptomicină și alte oligozaharide, la ristocetină, viomicină, la antibiotice polipeptidice (polimixine, bacitracină).

Sensibilitatea chlamydiilor la antibiotice se testează pe baza inhibări infectivității pentru embrionul de găină.

1. CHLAMYDIA TRACHOMATIS

> „Este suficient să spălăm ochii cum se spală și restul trupului" (Prof. *J. Babel*: *Nos yeux demandent protection. Santé du Monde*, Juin, 1970);
>
> „Muște, praf . . . și trahom" (*J. Reinhards, Santé du Monde*, 1970);
>
> „. . . gradul de endemicitate și severitate a trahomului sînt invers proporționale cu dezvoltarea socio-economică a populației" (VHO, Features, no. 1/1973); în țara noastră nu este trahom.

HABITAT

Habitat obligator intracelular, la om; microcoloniile formate în citoplasmă sînt așezate paranuclear:

— în trahom, au fost puse în evidență de *Halberstaedter* și *Prowazek* (1907), în celulele conjunctivale, numite „incluzii H.P."; sînt prezente și în stadiul inițial al bolii, în conjunctivita numită „cu incluzii";

— în infecțiile genitale, aceleași incluzii sînt prezente în *celulele epiteliale* ale colului uterin, vaginului, uretrei;

— în limfogranulomul venerian, sînt prezente și în monocite, descrise sub numele de „incluziile bazofile ale lui *Miyagava*".

(Aceleași aspecte sînt constatate în celulele infectate ale sacului vitelin, alantoidian, ca și în culturi de celule).

CULTIVARE

Ch. trachomatis a fost izolată pentru prima dată de *T'ang* și colab., în 1957.

(i) Pentru izolarea de la bolnav, bune rezultate sînt obținute prin inocularea produsului în sacul vitelin al embrionului de găină de 6—8 zile, incubat la 35°C, timp de 10—12 zile. După adaptarea la embrion prin treceri succesive pe sac vitelin, tulpinile de *Ch. trachomatis* omoară aproape constant embrionul.

(ii) Tulpinile odată adaptate la cultivarea în embrion, se dezvoltă bine și în culturile de celule HeLa și celule amniotice umane.

(iii) Animalele de laborator nu sînt susceptibile la inocularea directă a produsului patologic recoltat de la om. Unele tulpini adaptate la cultivarea în sacul vitelin au dat însă infecția șoarecelui inoculat pe cale cerebrală și au putut fi apoi transmise la maimuță la care se produce *pannus*, urmat de cicatrizare.

SENSIBILITATEA LA AGENȚI DE MEDIU EXTERN

Suspensia de *Ch. trachomatis* rezistă bine în soluții de sucroză 0,4 M în tampon fosfat de sodiu 0,02 M la care se adaugă 0,6% albumină (*p*H optim 7—7,4); la 0° pînă la 4°C, produsul patologic rămîne infecțios aproximativ 24 ore; în sac vitelin congelat la — 40°C pînă la — 70°C, rezistă timp de 4—8 luni.

CONTAMINAREA

Contaminarea are loc prin contact direct cu secreții provenind de la individ cu infecție conjunctivală, sau urogenitală:

nou-născutul se contaminează la naștere, în timpul trecerii prin colul uterin și vagin infectat, putînd să facă, fie conjunctivită, fie pneumonie *neonatorum*;

adultul se contaminează fie pe cale sexuală, ceea ce duce la uretrită-cervicită, fie prin apa recent contaminată, ceea ce duce la ,,conjunctivita de piscină'' (căile de contaminare cele mai frecvente în lumea ,,civilizată''), fie contaminarea conjunctivei prin mîini murdare și muște, în zonele calde de pe glob, unde soarele, praful și mai ales nisipul sînt factori esențiali de favorizare a grefării bacteriei pe conjunctivă (v. moto).

Prevalența formelor clinice pe glob este în raport de posibilități de contaminare (care pot fi prevenite) și factori de favorizare.

BOLI PRIN CHLAMYDIA TRACHOMATIS

Ch. trachomatis determină infecții benigne care se pot complica cu fenomene de sensibilizare mediate de celule, dînd boli grave, granulomatoase, ca trahomul și, respectiv limfogranulomul venerian; aceste boli grave pot fi prevenite prin tratare precoce și corectă a infecției primare:

— *infecția conjunctivală benignă*, ,,cu incluzii'', ,,conjunctivita de piscină'', poate duce la *trahom*;

— *infecțiile genitale benigne* (uretrite și cervicite) pot duce la *limfogranulom venerian* (LGV), cu localizări variate, ganglioni inghinali, mai ales la bărbați, ganglioni perirectali și pelvieni, la femeie;

— mai rar au fost descrise faringite, extinderi la mucoasele sterile de vecinătate, otite, și la pulmon, pneumonie *neonatorum*.

(i) Infecții conjunctivale

Conjunctivita benignă cu incluzii sau cu foliculi (*neonatorum*, prin mîini murdare, muște, ,,de piscină'') : primele modificări citologice care marchează infecția constau în apariția incluziilor bazofile H.P. în citoplasma celulelor epiteliului conjunctival și cornee; urmează o reacție inflamatorie, în primele zile cu PN, apoi cu macrofage și limfocite, care formează mici foliculi ce pot fi pasageri și duc cel mai adesea la imunizare cu resorbția focarelor inflamatorii și vindecare.

Incidența infecțiilor este asociată direct cu condițiile de mediu extern care favorizează microtraumatisme și iritații ale conjunctivei (soare, nisip, praf) și condiții precare de igienă care asigură intercontaminările (murdărie); infecția este adesea familială contractată în copilărie.

Trahomul este manifestarea gravă a bolii, o keratoconjunctivită. Degenerescența trahomatoasă are loc treptat, prin proces de necrozare și fibrozare a infiltratelor monocitare. Existența condițiilor de recontaminare la poarta de intrare joacă un rol important în creșterea severității bolii, prin sensibilizare.

Prezența imunoglobulinelor și a L. s. s. împiedică generalizarea infecției, iar localizarea la nivel cornean-conjunctival se datorează reacției imunologice de tip celular; noi contaminări intensifică reactivitatea celulară, inflamația, distrucția tisulară; reacțiile corneene cronice, granulomatoase sînt fenomene de sensibilizare mediate de celule.

La infecția trahomatoasă se asociază adesea suprainfecții cu alte bacterii, ca *Haemophilus*, *Moraxella*, ceea ce determină agravări și urcă rata sechelelor.

Epidemiologie. Trahomul este cauza cea mai frecventă a pierderii progresive a vederii pînă la orbire, boală care poate fi prevenită, și care reprezintă una din importantele probleme de sănătate în regiunile cu climă caldă. Pe glob, există încă 500 milioane de persoane afectate de această cauză de orbire (OMS, 1973). În Europa și Australia, reprezintă 5—6% din cauzele de orbire; în Asia, America, Africa, 12 — 27% (WHO Chronic, 1973, *27*, 1).

La noi în țară, la începutul secolului al XX-lea, trahomul constituia o problemă majoră; după al doilea război mondial, dinamica morbidității a înregistrat o scădere continuă. (În clinica oftalmologică din Iași, procentul de trahomatoși, din numărul total de bolnavi internați, era de 8,6% în 1936, de 6,5% în 1952 și 0% în 1972 și în prezent).

Diagnosticul de laborator în infecțiile conjunctivale:

— punerea în evidență a incluziilor bazofile caracteristice (fig. 143);

— izolarea și identificarea agentului infectant;

— decelarea anticorpilor în ser sau/și în lacrimi.

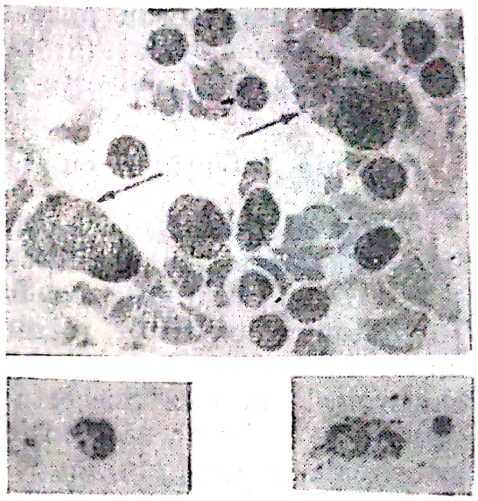


Fig. 143: Chlamydia trachomatis
A: Frotiu de celule de raclat conjunctival de la un caz de blenoree cu incluzii; săgețile indică agregate de particule de *Ch. trachomatis*, intracitoplasmice; colorație Giemsa. *B*: Amprentă de sac vitelin; două grămezi de particule bazofile; colorație Castañeda. (După *Swain* și *Dodds*, 1967).

Evidențierea incluziilor și izolarea pot fi încercate din produs de grataj conjunctival (se recomandă recoltarea din *fornixul* și *tarsul* superior, unde bacteriile de supracontaminare sînt mai puține).

Metodele cele mai folosite pentru serodiagnostic, ca și de punere în evidență a Ig în lacrimi, sînt RFC și testul de IF, utilizînd ca antigen suspensie purificată de *Ch. trachomatis*.

(ii) **Infecțiile genitale**

Infecțiile la poarta de intrare sînt adesea asimptomatice: manifestările clinice pot fi ușoare, *uretrite* la bărbat, cu evoluție cronică (ele fac parte din așa-numitele „uretrite nespecifice", adică negonococice*), *rectite*, *cervicite* și *anexite* la femei. Sînt inflamații ale mucoaselor, cu infiltrat monocitar.

Manifestarea gravă este *limfogranulomul venerian*, inflamație și supurație a ganglionilor inghinali, perirectali sau și pelvini. Microscopic, în primele stadii, în ganglioni este caracteristică prezența de multiple focare de infiltrație cu mononucleare, celule gigante, epitelioide; urmează necroză, fistulizare; uneori, zonele de necroză confluează distrugînd complet structura normală a ganglionilor, prinzînd țesut periganglionar și alți ganglioni. În stadiul terțiar, cronic, apare țesutul de granulație, cu fibrozare ducînd la modificări funcționale. Fără tratament antibacterian, sterilizarea are loc încet, cu formare de cicatrici retractile. Această evoluție are aspectul tipic al sensibilizării de tip întîrziat, celular. Dealtfel, bolnavii cu limfogranulom venerian răspund constant printr-o reacție de tip întîrziat la injectarea antigenului specific, test cunoscut sub denumirea de „reacția lui *Frey*"; se consideră că *„boala Crohn", colită sau ileită terminală granulomatoasă*, este de asemenea o chlamydiază.

Diagnosticul microbiologic al infecțiilor primare se bazează pe aceleași metode folosite pentru infecțiile conjunctivale, diferă numai produsele patologice; se recoltează, prin grataj, produs de pe mucoasa uretrală, col uterin, rect și/sau puroi obținut prin puncția unui bubon nefistulizat sau ganglion biopsiat (în raport de forma clinică).

---

* Se apreciază că cele mai multe din uretritele negonococice sînt date de *Chlamydia*.

În LGV, mai fidel este serodiagnosticul prin RFC și i.d.r. Frei.

Terapia infecțiilor cu Chlamydia trachomatis.

Terapia cu antibiotice este eficientă în stadiul precoce al infecțiilor oculare și genitale, cu condiția întreruperii recontaminărilor prin examinare și tratare concomitentă a contacților de familie, de școală, partener sexual. În trahomul constituit, rezultate bune în terapii de lungă durată dau sulfamide, macrolide, tetracicline (penicilinele dau sensibilizări). Intervenția chirurgicală pe cicatrice este adesea obligatorie pentru a preveni pierderea vederii (în trahom), ca și în forme severe de LGV mai ales la femeie (ocluzii intestinale, abcese etc).

Profilaxia infecțiilor cu Chlamydia trachomatis

Educația sanitară și respectarea cît mai riguroasă a condițiilor de igienă personală și colectivă sînt cele mai bune metode de prevenire a infecțiilor prin *Ch. trachomatis*: reducerea posibilităților de intercontaminare, depistare precoce și tratament corect a uretritelor, cervicitelor și conjunctivitelor, duc treptat la eliminarea surselor de infecție.

Odată cu obținerea cultivării agentului cauzal pe embrion (1957) și pe culturi celulare, au început încercări de preparare a unui vaccin, pentru aplicare în masă în regiunile calde de pe glob unde trahomul este endemic.

2. CHLAMYDIA PSITTACI

Ch. psittaci (psittacus = papagal*)* este un parazit obligator intracelular care dă îmbolnăviri la peste 100 de specii animale, mai ales păsări, dar și mamifere sălbatice și domestice. Cunoscută inițial ca boală a papagalilor și numită *psitacoză*, și a păsărilor de curte, rațe, curcani, găini, gîște etc., de unde numele de *ornitoză* (*ornithos* = păsări), infecția apare de asemenea la bovine, oi, capre, porci, cai, pisici, determinînd *boli sistemice*, cu *pneumonii* și *poliartrite*. Această infecție este cunoscută în America de Sud și Australia ca boală a papagalilor, odată cu care a fost „importată" în Europa. În America de Nord, sursa cea mai frecventă sînt curcanii, în Europa, rațele și găinile, papagalii mai rar și alte specii.

Animalele elimină chlamidiile prin excrete, secreții bronhopulmonare și dejecte.

Contaminarea

Contaminarea omului are loc prin contact direct și indirect cu păsări, mamifere și excretele lor, care sînt foarte contagioase; a fost demonstrată și contaminare interumană.

Ornitoza și psitacoza la om sînt cel mai adesea boli profesionale ale îngrijitorilor de păsări și animale; frecvența infecției este în raport direct cu frecvența acestor contacte.

Infecția poate evolua inaparent, sau ca boală acută ușoară; mai rare sînt formele grave cu aspect tifoidic, pneumonic, cu letalitate mare.

Poate determina explozii epidemice la persoane care inhalează praf de pene și aerosoli de excrete încărcate cu chlamidii.

*DIAGNOSTICUL**

Diagnosticul microbiologic este de mică valoare.

Chlamidiile pot fi puse în evidență în spută, exsudat faringian și sînge; din spută și sînge pot fi izolate prin inoculare în sac vitelin la embrion de găină, culturi celulare, animale sensibile (inoculare i. p. la șoarece, instilare pe cale nazală la hamster, inoculare i. c. sau prin ingestie la porumbei); bune rezultate dă inocularea inițială a produsului intratesticular la cobai și, după cîteva zile, recoltarea glandei infectate și pasaj în sac vitelin la embrion de găină sau la șoarece (v. pag. 583).

Serodiagnosticul constă în demonstrarea dinamicii ascendente a anticorpilor fixatori de complement (v. cap. XXXV, pag. 600) și permite un diagnostic satisfăcător.

TRATAMENT

Tetracicline timp de 14–21 zile dau bune rezultate.

PROFILAXIA PSITACOZEI

La om, constă în controlul riguros bacteriologic și serologic al fiecărui lot de păsări din import, cu carantinare timp de 30 zile, interval în care vor fi profilactizate prin administrare de clortetraciclină (10 μg/g de hrană) și vaccinare cu un vaccin preparat din sac vitelin de embrion de găină infectat, control bacteriologic și serologic în ferme de păsări.

BIBLIOGRAFIE

1. ACCARDI A.: Diffusion actuelle du trachome en Somalie. *Rev. Internat. du trachome*, *48*, 49–51, 1971.
2. ANONYMOUS: Chlamydiae and genital infection. *Lancet*, 1, 703, 1973.
3. BABEL J.: Nos yeux demandent protection. *Santé du Monde*, juin, 1970.
4. EB F., ORFILA J., DEVAUCHELLE G.: Etude de *Chlamydia trachomatis*. Polymor-

---

* Vezi în introducere modul de recoltare, p. 571.

phisme de l'agent du trachome en culture cellulaire. *Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur), 124 B,* 41—71, 1973.

5. FORMMEL G. T., BRUIN F. W., SCHWARTZMAN J.: Isolation of *Chlamydia trachomatis* from infant lung tissue. *N. Engl. J. Med.*, May 19, 1 150—1 152, 1977.
6. GIROUD P.: Les chlamydioses. *M. P.*, 626, p. 35, 1976.
7. KAUFMAN R., WIESNER P. J.: Nonspecific urethritis. *N. Engl. J. Med.*, Nov. 28, 1 175—1 177, 1974.
8. MORDHORST C. H., DAWSON C.: Sequelae of neonatal inclusion conjunctivitis and associated disease in parents. *Am. J. Ophth.*, *71*, 4, 861—867, 1971.
9. ROUQUES L.: Manifestations pleuro-pulmonaires de l'ornithose. *Presse Méd.*, *77*, 1, p. 23, 1969.
10. SCHACHTER J., CAUSSE G., TARIZZO M. L.: Chlamydiae as agents of sexually transmitted diseases. *Bull. OMS*, *54*, 245—254, 1976.
11. TARIZZO M. L.: Field method for control of trachoma. WHO, Geneva, 1973.
12. TARIZZO M. L.: *Trachoma.* În *Infectious Diseases.* A guide to the understanding and management of infectious processes. Hoeprich P. D. (Ed.), 1972, Harper-Row, Hagerstown, Maryland.
13. TRIBBY I. I. E. et all.: Effect of chloramphenicol, rifampicin, acid nalidixic on *Chlamydia psittaci* growing in L cells. *J. Infect. Dis.*, *127*, 2, p. 155, 1973.
14. * * *: Preventable blindness. 25 facts about trachoma. *OMS Features*, 1, 1973.
15. * * *: *Chlamydia* surveillance. W. H. O. *Wkly Epidem. Rec.*, nr. 26, 1976.

XXXV. CLASA MOLLICUTES

ORDINUL MYCOPLASMATALES

Clasa **Mollicutes** are un singur ordin, **Mycoplasmatales**, care, încadrează cele mai rudimentare bacterii capabile să trăiască pe medii inerte (lipsite de celule vii); sînt lipsite de peretele rigid, caracteristic bacteriilor din celelalte două clase, fiind limitate de un înveliş unic, moale, tristratificat, de 7 – 12 nm, mai bogat în lipide decît cel prezent la specii din clasa *Bacteria* (v. cap. I). Au un mare polimorfism, de unde şi numele *plasmatales* = plasticitate morfologică, *myco* = aspecte pseudomiceliene (*mykes* = fung, mucegai). Ordinul are două familii **Mycoplasmataceae**, cu genul *Mycoplasma*, cu o singură specie sigur patogenă pentru om, *M. pneumoniae*, agentul pneumoniei atipice primare (necesită steroli, colesterol, pentru cultivare şi sînt sensibile la amphotericin B); **Acholeplasmataceae**, cuprinde specii saprofite în mediul extern şi pe mucoase la unele mamifere (bovine, porcine) şi păsări (găini), nepatogene pentru om (nu necesită colesterol, *achole*, pentru creştere şi sînt rezistente la amphotericin B); specia tip a genului *Acholeplasma* este *A. laidlawii*.

GENUL MYCOPLASMA

Genul *Mycoplasma* cuprinde cel puţin 36 de specii, din care: 5 specii, prezente pe mucoase la om, la care se adaugă tulpinile numite *Mycoplasma-T*, insuficient caracterizate şi încă neomologate ca specie (tabel 86), şi 30 specii izolate de la diferite mamifere şi păsări, majoritatea patogene; *M. mycoides*, agentul pleuro-pneumoniei bovideelor este specia tip a genului (tabel 87).

ISTORIC

Prima tulpină, *M. mycoides**, a fost izolată în 1898 de *Nocard* şi *Roux* din pleuropneumonia bovideelor, o pneumonie interstiţială asociată adesea cu pleurezie serofibrinoasă, foarte contagioasă, care dădea epizotii cu letalitate mare şi enorme pierderi economice (boală practic eradicată în Europa şi America de Nord).

În 1923, a fost diferenţiată *M. agalactiae*, agentul agalactiei oilor, infecţie digestivă, care devine generalizată, cu inflamaţii purulente ale articulaţiilor, mamelelor, care se soldează cu pierderea laptelui, răspîndită mai ales în jurul Mediteranei.

---

* Numită şi PPO (*pleuro-pneumonia organism*).

Tabelul 86

Specii *Mycoplasma* prezente la om, caractere diferenţiale

	Habitat		Patogenitate	Infecţii ale	Dimensiuni : µm	Creştere la izolare zile	Aspectul coloniei	Fermentarea glucozei	Hemoliza gl. roşii cobai	Hemadsorbţie pe gl. roşii om	Reducere tetrazoliu	Eritromicină,
	TRS	TGI										
Myc. pneumoniae	+	(rar)	demonstrată	TRS—TRI	2—5	5—10	granulară	+	+	+	+	S
,, *salivarium*	+	?	nepatogen	— —	0,6—1	repede	,,ochi''	—	lent *	—	—	R
,, *orale* (3 serotip.)	+	?	,,	— —	8—10	moderat	,,ochi''	—	,,	—	—	R
,, *hominis* (2 serotip.)	(rar)	+	probabilă	TG	2—30	repede	,,ochi''	—	,,	—	—	R
,, *fermentans*	(rar)	(rar)	discutată	TG	1,5—10—40	repede	granulară	+	,,	—	+	R
Mycoplasma T ** (tulpini Shepard)	(rar)	+	,,	TG, turetrite		16—18 h	granulară (mici) 15—25 µ∅	—		—	—	S

* Hemoliza identificată cu peroxidază de hidrogen.
TRS = tractus respirator superior ; TGI = tractus genital inferior (vagin, uretră ant.)
** Hidrolizează ureea cu acumulare de amoniac.
,,Ochi'', aspect de ou la capac : arie centrală compactă, halou periferic difuz ; ,,granulară'', obişnuit fără halou.

Tabelul 87

Specii *Mycoplasma* izolate de la animale

Specia:	Origine: pe mucoase	Infecţii:
Myc. mycoides	bovine, ovine, caprine	pulmonare PPO, agalactia contagioasă
Myc. agalactiae	bovine, caprine, ovine	agalactia contagioasă
Myc. bovigentialium	bovine, caprine	genitale, oculare, mastite
Myc. bovirhinis	bovine	pneumonii
Myc. arginini	bovine, ovine, caprine	
Myc. alkalescens	bovine	?
Myc. conjunctivae	ovine, caprine	
Myc. dispar	miei	pneumonie
Myc. ovipneumoniae	miei	,,
Myc. hyorhinis	porcine	rinite atrofice
Myc. hyopneumoniae	porcine	sinovite
Myc. flocculare	porcine	pneumonii enzootice
Myc. hyosinoviae	porcine	,, ,,
Myc. spumans	cîine	genitale şi generale (probabil)
Myc. canis	cîine	,, ,, ,, ,,
Myc. maculosum	cîine	,, ,, ,, ,,
Myc. cynos	cîine	?
Myc. edwardii	cîine	?
Myc. gateae	pisică	?
Myc. feliminutum	pisică	
Myc. felis	pisică	
Myc. pulmonis	murine, iepuri	respiratorii, conjunctivite
Myc. arthritidis	murine	artrite purulente, poliartrite
Myc. neurolyticum	murine (şoarece)	,,rolling disease''
Myc. gallisepticum	păsări de curte	respiratorii cronice, sinuzite, artrite
Myc. gallinarum	păsări (găini)	nepatogen
Myc. anatis	păsări (raţe)	
Myc. iners	păsări (curcani)	nepatogen probabil
Myc. meleagridis	păsări (curcani)	,, ,,
Myc. synoviae	păsări (găini, curcani)	sinovite
Myc. primatum	maimuţe (TRS, TG)	?

În 1936, *Laidlaw* şi *Elfort* au izolat din mediul extern, ape de scurgere şi sol, o specie saprofită (sau comensală a mucoaselor animalelor ajunsă în sol odată cu excretele), *Acholeplasma laidlawii*.

Prima mycoplasmă de origine umană a fost izolată în 1937, de *Dienes* şi *Edsall*, din puroiul unui abces al glandei Bartholin, denumită, ulterior, *M. hominis* tip 1.

Între anii 1930—1940, a fost diferenţiat clinic grupul ,,pneumoniilor atipice primare'' (PAP), diferite de pneumoniile date de piogeni (*S. pneumoniae* etc.). S-a constatat că acest sindrom are diferite etiologii, multe PAP fiind de origine virală (adenovirusuri, gripal A şi B, paragripal 3, respirator sinciţial); se diferenţiau însă o categorie epidemiologică a cărei etiologie virală nu putea fi demonstrată şi care se caracterizau prin capacitatea serului de bolnav de a aglutina la rece propriile hematii, sau hematii O, şi suspensii de streptococ viridans, specia numită MG sau *S. anginosus*, şi care au fost numite ,,pneumonii cu aglutinine la rece''.

În 1944, *Eaton*, *Meiklejohn* şi *Herick* au izolat din sputa acestor bolnavi agentul etiologic al PAP ,,cu aglutinine la rece''. Datorită faptului că a fost izolat prin inocularea filtratului de spută la oul de găină embrionat, agentul PAP a fost mulţi ani considerat un virus şi denumit

„agentul Eaton". În 1962, se constată că „agentul Eaton" este o bacterie (se dezvoltă pe medii artificiale fără celule vii, este sensibil la antibiotice), asemănătoare structural agentului pleuropneumoniei bovine (PPO). Ca urmare, a fost alcătuit genul *Mycoplasma* și „agentul Eaton" a primit numele de *M. pneumoniae*.

Ulterior, au fost izolate de la om și alte specii; un oarecare potențial de patogenitate se discută pentru unele (tabel 86).

HABITAT, CONTAMINARE

Speciile *Mycoplasma* izolate de la om fac parte dintre comensalii obișnuiți ai mucoaselor (bucofaringiană, vaginală, uretrală), incapabile să se dezvolte în mediul extern ca saprofite. *M. salivarium* și *M. orale* sînt speciile cel mai frecvent izolate din gura și faringele omului sănătos (10—85%); *M. hominis* tip 1 a fost izolată mai rar (1—4%), iar *M. pneumoniae* este izolată rar de la persoane sănătoase. De pe mucoasa genitală normală, cea mai frecvent izolată este *M. hominis* tip 1, *M. fermentans* și tulpini-T, în procente cu puțin inferioare izolărilor din uretrite negonococice (0—54%, față de 7—79%).

Pasajul de la om la om are loc prin picături Pflügge, favorizat de aglomerație, și pe cale veneriană. Omul se poate contamina și deveni purtător de micoplasme animale.

MORFOLOGIE, COLORABILITATE

Sînt filamente foarte subțiri de 0,15—0,25 µm Ø (trec prin filtre care rețin bacteriile propriu-zise); au lungimi care variază între 1—2 și 10—40 µm; *M. pneumoniae* are 2—5 µm lungime. Datorită lipsei peretelui rigid, au o mare plasticitate în raport cu osmolaritatea mediului (formează corpusculi mai mari în medii hipotonice și forme asteroide în medii hipertonice) și în raport de calitățile lui nutritive (forme nesegmentate, filamentoase, coci giganți în medii nefavorabile, prin insuficientă sinteză a pereților despărțitori între celulele fiice). Pleomorfismul este mai mare în medii lichide; sînt imobile, necapsulate, nesporogene; gram-negativ.

Datorită dimensiunilor foarte mici, variabile și pleomorfismului, *micoplasmele nu pot fi recunoscute în frotiuri din produse patologice și nici din culturi în medii lichide, ci numai prin examinarea întregii colonii prelevate de pe mediile semisolide* (fig. 144).

NECESITĂȚI NUTRITIVE, CULTIVARE

Mycoplasmele se dezvoltă numai pe medii bogate, conținînd factori speciali de creștere (*M. pneumoniae* este cea mai exigentă); în afară de colesterol și lecitină (factori care nu au mai fost menționați pentru alte bacterii) și diferite proteine prezente în lichidele organice native, *M. pneumoniae* necesită un factor dializabil, rezistent la căldură, prezent în extractul proaspăt de drojdie. Cresc atît în medii lichide cît și pe medii semisolide,

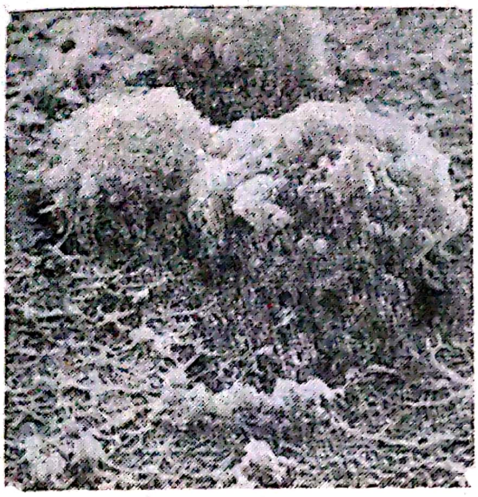


Fig. 144: Electronomicrografie de baleiaj a unei culturi de 3 zile de *Mycoplasma pneumoniae*; microorganismele din colonii apar rotunde și la suprafață există o rețea de filamente (Reprodus din *J. Hoeprich*, *Infectious Diseases*, 1972).

cu aceeași formulă de bază: infuzie de inimă de bou, ser de cal, extract proaspăt de drojdie. Mult folosită este formula lui *Hayflick* modificată de *Edward*[*].

Sînt facultativ anaerobe; la izolarea din organism creșterea este favorizată de incubare anaerobă. La izolare, apariția coloniilor durează 1—2 săptămîni; după adaptare cresc mai repede.

Aspectul coloniilor pe medii semisolide este tipic prin dimensiunile foarte mici și asemănarea cu coloniile date de bacteriile fără perete („forme L" numite și PPLO = *pleuro-pneumoniae like organisms*", v. cap. II). Coloniile de *M. pneumoniae* au în medie 0,03—0,15 mm Ø și pot ajunge la 0,5—0,6 mm Ø. Cele mai mici sînt coloniile tulpinilor *Mycoplasma-T*, de 0,015 — 0,025 mm Ø, vizibile numai la lupă; pe medii speciale pot da colonii de 0,1 — 0,2 mm Ø (T, de la *tiny* = foarte mic). Pentru majoritatea speciilor, colonia are un centru mai compact, îngropat în grosimea mediului, și un halou periferic, difuz, dat de dezvoltarea pe suprafața mediului, totul îmbrăcînd aspectul de „ou prăjit", „ochi". Aspectul coloniilor de *M. pneumoniae* este puțin diferit, se dezvoltă de asemenea în grosimea mediului, dar au aspect compact, suprafață granulară, de „mură"; prin treceri succesive capătă aspect tipic de „ochi" (fig. 145; 146).

Pentru a confirma existența coloniilor de *Mycoplasma* pe mediile însămînțate, colonia este prelevată în totalitate, aplicată pe lamă și colorată; pentru o mai bună vizualizare a formelor individuale este recomandată colorația *Dienes*[**].

PROPRIETĂȚI BIOCHIMICE

M. pneumoniae și *M. fermentans* diferă de celelalte specii umane prin *fermentarea glucozei* și a altor zaharuri: xiloză, manoză, maltoză, dextrină, amidon. (Folosind un mediu difazic, geloză-bulion, cu glucoză și roșu fenol, creșterea *M. pneumoniae* este mai rapid depistată prin modificarea culorii mediului).

---

[*] 7 părți *infuzie de inimă de bou*: 500 g inimă de bou, proaspătă (sau 50 g extract dehidratat), 1 litru apă, 1 g peptonă Difco, 5 g clorură de sodiu, 14 g agar (pentru geloză semisolidă); 2 părți *ser de cal*, neîncălzit; o parte *extract proaspăt de drojdie* (25%); *p*H final 7,6—8,0. Mediul este repartizat în petriuri și incubat la 34—37°C în atmosferă umedă. (Serul de cal poate fi înlocuit cu ser de porc, vițel, iepure, gălbenuș de ou). Ca substanțe selective se pot adăuga: Pen G 1 000—2 000 U/ml, sau/și PoB 25 µg/ml, sau acetat de taliu 1/2 000—1/10 000 (inhibă și creșterea tulpinilor *Mycoplasma T*).

[**] Colorant Dienes: albastru de metilen 0,5 g; azur II 0,25 g; maltoză 2,00 g; carbonat de Na 0,05 g; acid benzoic 0,04 g; apă distilată 20,00 ml.

M. pneumoniae produce *hemadsorbția* și liza completă (tip β) și rapidă (în 24 — 48 ore) a globulelor roșii de cobai și de om; celelalte specii lizează încet și incomplet dînd hemoliză verzuie:

— gl. roșii sînt adăugate în suspensie pe placa cu colonii; coloniile de *M. pneumoniae* le adsorb și ulterior le lizează sau

— plăci cu agar, însămînțate, sînt acoperite cu un strat de geloză cu 3% sînge de cobai; în cazul prezenței de colonii de *M. pneumoniae*, în jurul fiecărei colonii apar arii circulare de beta-hemoliză. (S-a sugerat că hemaglutininele la rece care se dezvoltă în timpul infecției cu *M. pneumoniae* reprezintă un răspuns autoimun față de globulele roșii alterate de hemolizină).

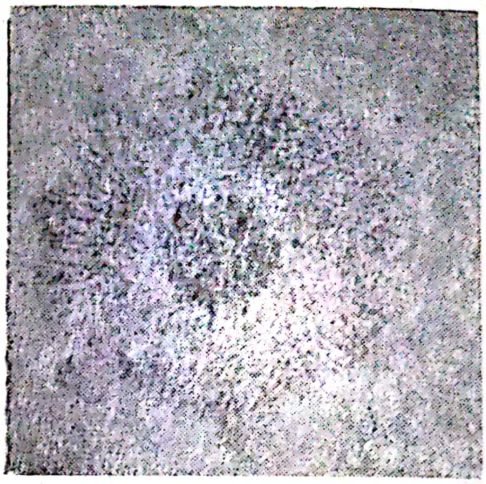


Fig. 145: Colonie de *Mycoplasma pneumoniae* cu aspect de „ochi"; × 250 (După *J. Perol* și *J. Latrielle*, 1975).

M. hominis descompune arginina.

Tulpinile *Mycoplasma-T* descompun ureea producînd amoniac; un mediu cu *p*H inițial 7, care conține uree și roșu fenol, este folosit pentru (i) decelarea creșterii coloniilor de *Mycoplasma-T*, prin înregistrarea virajului culorii de la galben la roșu, și (ii) pentru măsurarea anticorpilor în ser, prin test de inhibare a creșterii.

M. pneumoniae și *M. fermentans* diferă de celelalte tulpini umane prin capacitatea de a reduce clorura de 2,3,5-trifeniltetrazolium (tabel 86).

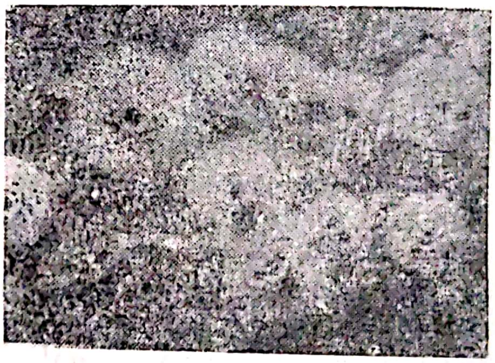


Fig. 146: Colonii de mycoplasme văzute la contrast de fază, × 125 (După *J. Perol*, *J. Latrielle*, 1975).

SENSIBILITATEA LA AGENȚI FIZICI ȘI CHIMICI

Mycoplasmele mor în 15 min la 56°C, la antiseptice, la agenți tensioactivi, detergenți, urme de metale grele.

La temperatura frigiderului (4°C), supraviețuiesc maximum două săptămîni pe medii solide și mult mai puțin în medii lichide. Congelate la — 20°C (cel puțin), supraviețuiesc pînă la un an de zile. Se conservă prin liofilizare.

Rezistența la șocuri osmotice este mai mică decît a bacteriilor tipice, dar mai mare decît a formelor „L" a acestora.

Cu excepția tulpinilor-T, inhibate de o concentrație 1/2 000, mycoplasmele sînt rezistente la concentrații 1/1 000 acetat de taliu, substanță înalt bacteriostatică pentru alte bacterii gram-negativ şi formele sporulate ale bacteriilor aerobe. (Acetatul de taliu şi penicilina se includ în mediile pentru izolarea *M. pneumoniae* din spută).

SENSIBILITATEA LA A. ŞI CH.

In vitro, mycoplasmele sînt natural sensibile la majoritatea antibioticelor, cu excepţia acelora cu acţiune de perete* (v. cap. IX), şi a sulfamidelor. *In vivo*, acţiunea terapeutică ar fi diminuată de parazitismul facultativ intracelular al mycoplasmelor. Au fost puse în evidenţă tulpini cu rezistenţă dobîndită la kanamicină şi streptomicină.

STRUCTURĂ ANTIGENICĂ ŞI TESTE DE IDENTIFICARE SEROLOGICĂ

În scopul identificării speciilor *Mycoplasma*, pentru prepararea antigenelor se folosesc tulpini clonate. Imunoserurile se prepară prin inocularea iepurilor cu Ag obţinute din culturi pe medii preparate din muşchi şi ser de iepure (pentru a minimaliza dezvoltarea de anticorpi faţă de constituenţii mediilor de cultură).

Identificarea antigenică se face prin diferite reacţii folosind ser imun specific de specie:

1) reacţia de fixare a complementului (RFC), foloseşte ca Ag cultura în bulion sau extract lipidic (cu eter-cloroform), purificat;
2) test de imunofluorescenţă (IF), colorarea coloniilor cu anticorpi fluorescenţi;
3) test de inhibare a hemaglutinării (HAI), foloseşte antigen extras prin ultrasonare, adsorbit pe hematii tanate de oaie;
4) gel-difuzie, foloseşte ca antigen suspensie densă de mycoplasme (fragmentate);
5) testul de inhibare a cultivării; serul care conţine anticorpi specifici împiedică creşterea speciei omologe, fără intervenţia complementului (serul este aplicat pe suprafaţa mediului); această metodă a devenit cea mai utilizată, a demonstrat cea mai înaltă specificitate în diferenţierea tulpinilor nou izolate şi stă la baza şi a altor teste importante, cum sînt testele de inhibare metabolică:
   - inhibarea reducerii sării de tetrazoliu;
   - inhibarea hemadsorbţiei;
   - inhibarea glicolizei;
   - inhibarea descompunerii ureei de către tulpinile-T.
6) aglutinarea; antigenul folosit este instabil, ceea ce limitază folosirea metodei.

Testul de inhibare a cultivării a demonstrat că cele cinci specii umane de *Mycoplasma* sînt antigenic distincte: *M. pneumoniae* în acest test şi în imunodifuzie nu prezintă nici o relaţie antigenică cu celelalte specii izolate de la om şi animale. Teste mai sensibile, ca RFC şi HAI, pun în evidenţă unele înrudiri antigenice (la titruri mici) între *M. salivarium* şi *M. hominis* tip 1 şi 2.

M. pneumoniae posedă un lipid, care poate fi extras cu eter şi cloroform şi care este antigenul major fixator de complement, specific de specie, ca şi componente lipidice comune cu alte specii (*M. neurolyticum*), specifice de gen.

---

* Înalt rezistente la penicilină.

PATOGENITATEA EXPERIMENTALĂ PENTRU M. PNEUMONIAE

(i) Se dezvoltă bine pe culturi tisulare de origine umană, simiană, aviară, lapină, de obicei fără a produce efect citopatic; formează colonii extracelular care se pot vedea după colorare Giemsa.

(ii) Pe embrionul de găină de 12—13 zile, determină o infecție limitată în cele mai multe cazuri la epiteliul bronhial; mycoplasmele apar întîi în stratul mucos care acoperă epiteliul și apoi intracelular.

(iii) Dintre animalele de laborator, șobolanul de bumbac și hamsterul sînt cele mai susceptibile; fac, după 10—14 zile de la inoculare, o infecție cu leziuni macroscopice și microscopice, cu paralizia cililor mucoasei TRS, pneumonie: infiltrat peribronhial cu celule mononucleare.

În toate aceste infecții, mycoplasmele pot fi puse în evidență prin imunofluorescență, iar creșterea poate fi inhibată prin incubarea prealabilă a inoculului cu ser imun (de la convalescent de PAP).

(iv) Proba finală prin care s-a demonstrat rolul etiologic al *„agentului Eaton"* în infecție acută respiratorie la om a fost experimentul pe voluntari: loturi de indivizi, fără anticorpi, și loturi cu anticorpi specifici, au fost contaminați: *dintre voluntarii fără anticorpi*, aproape toți au dezvoltat anticorpi specifici; un procent mai redus au dezvoltat și aglutinine la rece; aproximativ 26% au făcut și boli respiratorii febrile; un număr mic (5%) au reprodus pneumonia; *voluntarii care posedau anticorpi* nu au făcut infecții.

INFECȚII CU MYCOPLASME LA OM

1. Infecții cu M. pneumoniae. *M. pneumoniae* este singura specie sigur patogenă pentru om. Cu foarte mari variații de la statistică la statistică, 40—60% din PAP sînt de etiologie mycomplasmică, restul sînt virale, sau rickettsiene.

Infecția este cel mai adesea inaparentă; doar 3—10% din infectați fac o formă clinică. Apare ca boală a adolescenților și tinerilor între 15—20 ani (5—30 de ani), mai rară la sugari și bătrîni. În perioade epidemice, în sezonul rece, frecvența anticorpilor anti-*M. pneumoniae* în colectivități închise atinge 80—90%, ceea ce demonstrează larga propagare prin picături Pflügge în condiții de aglomerație, și numărul mare de infecții inaparente. Mycoplasmele persistă în faringele convalescenților perioade lungi (4 săptămîni), în ciuda prezenței titrurilor înalte de anticorpi.

Manifestările variază de la rinofaringite, angine, pînă la bronhopneumonii, pleuropneumonii și pericardite. Uneori are loc concomitent infecția otică, miringita. Infecțiile sînt uneori bacteriemice și au fost demonstrate localizări endocardice. Infecția ar determina modificări tisulare care duc la apariția de autoanticorpi anti-tisulari (anti-creier, la bolnavi cu simptome neurologice). Rareori boala este mortală.

Patogenitate și imunitate. M. pneumoniae este o bacterie netoxigenă, cu virulență redusă (90—97% din infecții sînt inaparente) și sensibilizantă (manifestarea clinică se datorează fenomenelor, exagerate, ale IMC).

Studii imunologice arată că reacția limfocitelor-T specific sensibilizate (l. s. s.) asigură imunitate (IMC) anti *M. pneumoniae*; aceleași celule fiind și la originea manifestărilor caracteristice bolii. Aspecte ca, marea frecvență a infecției inaparente (virulență redusă), frecvența PAP în special la adolescenți și adulții tineri (cu bună reactivitate imunologică), prezența infiltratului masiv pulmonar peribronhial cu mononucleare, reacția pleurală și resorbție fără sechele cel mai adesea, alături de date care arată că învelișul mycoplasmelor conține multe lipide, că *M. pneumoniae* a fost demonstrată ca bacterie cu parazitism intracelular facultativ, impun compararea PAP cu infiltratul tuberculos, proces de sensibilizare mediat de celule (tip întîrziat). Studii recente au arătat că în PAP are loc un important fenomen de blastogeneză, de asemenea, expresie a sensibilizării de tip celular, și că teste de sensibilizare cutanată de tip întîrziat sînt constant pozitive la omul infectat. Imunopatogenia manifestărilor clinice este demonstrată și experimental:

La animale timectomizate, la care IMC este anulată, infecția experimentală evoluează, dar fără a se complica cu fenomene de infiltrație monocitară. Experiențe ca cele sumarizate în tabelul 88 susțin această interpretare; ele demonstrează că l. s. s. previn cel mai adesea instalarea infecției clinice și răspîndirea mycoplasmelor în organism; uneori însă, formarea infiltratelor monocitare devine aparentă și clinic manifestă; anularea funcției acestor celule (a IMC) prin timectomie permite instalarea rapidă a infecției, generalizarea și modificarea tabloului histologic.

Tabelul 88

Posibilități privind infecții experimentale pe cale pulmonară cu *Myc. pulmonis* la șoarece

	IMC normală (șoareci normali)	IMC anulată prin timectomie, x-iradiere, ser antilimfocitar
Infectare cu *Myc. pulmonis*:	greu obținută; multe infecții inaparente	rapidă
Difuzarea infecției în alte organe:	rareori	frecvent
Infiltrate monocitare caracteristice IMC:	manșoane perivasculare și peribronhiolare cu mononucleare	absente, puțin evidente

IMC = imunitate mediată de celule.

2. **Alte infecții respiratorii, cu alte specii Mycoplasma.** *M. hominis* este prezentă la 2—3% din adulți, pe mucoasa TRS; rolul ei în infecții (faringite, amigdalite, miringite) rămîne încă de demonstrat; participă însă ca agent de asociere; s-a arătat, de exemplu, că la indivizi cu bronșite cronice, cu prezența mycoplasmelor pe mucoasă, titrul anticorpilor crește marcant în timpul și după infecții acute virale și pneumonii cu bacterii piogene.

3. **Rolul mycoplasmelor în infecții ale tractusului genital (TG).** *M. hominis*, *M. fermentans* (rar) și tulpini *Mycoplasma-T*, sînt comensali ai mucoasei vaginale și ai uretrei anterioare la 50% femei și la 20—30% bărbați. Unele date arată o frecvență a mycoplasmelor mai mare în uretrite negonococice decît la purtătorii sănătoși; altele, arată că rata izolărilor este practic aceeași. Există însă unele studii imunologice și izolări de culturi pure din colecții închise, ca bartholinite, salpingite, abcese ovariene, care arată clar că în cazul alterărilor de mucoasă și apărare antiinfecțioasă deteriorată*, este posibilă colonizarea și infecții cu mycoplasme la diferite nivele ale TG.

---

* Instrumentații repetate, masaje, dezepitelizări prin antiseptice, tratamente locale repetate, alcalinizarea mucoasei vaginale prin alte infecții bacteriene, sînt condiții favorizante pentru colonizarea mucoaselor cu specii *Mycoplasma* comensale.

În ce privește izolarea unor tulpini pe culturi celulare inoculate cu diverse alte produse patologice (tumorale, măduvă osoasă și sînge din leucemii), trebuie avut întîi în vedere că *contaminarea accidentală a culturilor celulare cu mycoplasmele prezente pe mucoasa rinofaringiană a lucrătorului a fost fercvent demonstrată.*

DIAGNOSTICUL PAP PRIN M. PNEUMONIAE

Pneumonia dată de *M. pneumoniae* nu poate fi diferențiată clinic de alte PAP, virale; testele de laborator permit izolarea *M. pneumoniae*, punerea în evidență a dinamicii ascendente a anticorpilor anti–*M. pneumoniae* și diagnostic prezumtiv prin teste „ajutătoare" (hemaglutinarea la rece și aglutinarea streptococului MG, folosite anterior cunoașterii agentului etiologic și a căror mecanism este azi în parte lămurit).

(i) *Izolarea M. pneumoniae* este laborioasă, necesită 1—2 săptămîni, și puțin fidelă cînd se face din spută expectorată; izolarea din aspirat transtraheal, sau transtoracic, este singura care poate confirma evoluția infecției cu *Mycoplasma*.

(ii) *Serodiagnosticul* prin punerea în evidență a dinamicii ascendente a anticorpilor în serul bolnavului este metoda cea mai comodă și fidelă; necesar, *serul 1*, recoltat la internare (prima prezentare la medic) cît mai aproape de debutul bolii și *serul 2*, recoltat după 1—2 săptămîni. Ca reacție pentru serodiagnostic, cea mai recomandată este RFC, deoarece prin folosirea unei tehnici unice* permite executarea, în paralel, cu toate antigenele cu care trebuie făcut diagnosticul diferențial etiologic al PAP (antigene: *M. pneumoniae, Chlamydia psittaci, Coxiella burnetii* și virusuri, gripal A, B, C, paragripal 1, 2, 3, 4, respirator sincițial și adenovirus). Etiologia pneumoniei este indicată de antigenul în prezența căruia serul bolnavului demonstrează dinamică ascendentă a anticorpilor: creșterea titrului FC de cel puțin 4 ori în al doilea ser (de exemplu, de la 1/200, la 1/800).

(iii) *Testele serologice „ajutătoare"* mai sînt folosite, cînd lipsește antigenul *M. pneumoniae* pentru efectuarea testului anterior expus:

Hemaglutinarea la rece: serul bolnavului aglutinează la + 4°C propriile hematii (în titruri de 1/32); aglutinatele se desfac la 37°C.

Se consideră că această aglutinare s-ar datora unor autoanticorpi apăruți în organism ca urmare a alterărilor antigenice produse de hemolizine eliberate de *M. pneumoniae* asupra globulelor roșii, în timpul infecției. Aceasta ar explica totodată de ce aglutininele la rece sînt puse în evidență mai ales în cazuri grave de PAP.

Aglutinarea streptococului viridans MG, s-ar explica prin existența unui Ag comun, prezent atît la streptococul MG, *(S. anginosus)*, cît și la *M. pneumoniae* (v. cap. XXII).

---

* Ca tehnică unică pentru RFC recomandăm tehnica lui *Bradstreet* și *Taylor* (publicată în 1962), experimentată și de noi pe zeci de mii de seruri, începînd din 1960, și omologată ca atare și în țara noastră de consfătuirea de lucru a Comisiei de Standardizare a Metodelor de Laborator a Acad. St. Med., organizată de noi la Iași în 1976. Tehnica a fost publicată în Rev. Med. Chir. (Iași), nr. 1, 141—150, 1977. Este tehnica RFC care asigură cea mai mare fidelitate, iar execuția în plăci cu godeuri asigură posibilitatea testării, în paralel, a aceluiași ser cu mai multe antigene.

PROFILAXIE

A fost demonstrată pe voluntari rezistența la infecția cu *M. pneumoniae* a posesorilor de Ac specifici, obținuți mai ales cu vaccin viu atenuat *; ca și în alte infecții date de bacterii facultativ intracelulare (cum este TBC).

BIBLIOGRAFIE

1. BIBERFELD G.: Antibodies to brain and other tissues in cases of *Mycoplasma pneumoniae*. *Xth Intern. Congr. Microbiol.*, Mexico, 1970.
2. CORMACK W. M. et all.: Genital Mycoplasmes in postpartum fever. *J. Infect. Dis.*, *127*, 2, p. 193, 1973.
3. CLARK H. W., BAILEY J. S., BROWN T. Mc. P.: *Mycoplasma*: Potential autoantigens. *Xth Intern. Congr. Microbiol.*, Mexico, 1970.
4. CRĂCEA E., BOTEZ D., şi colab.: Cercetări comparative asupra metodelor de izolare a Mycoplasmelor din culturi celulare. *Ses. St. Anuală I. C. (XIV)*, Bucureşti, 1976.
5. FURNESS G.: T-Mycoplasmas: some factors affecting their growth, colonial morphology and assay on agar. *J. Infect. Dis.*, *128*, 6, p. 703, 1973.
6. HAYFLICK L., CHANOCK R. M.: Mycoplasma species of man. *Bact. Rev.*, *29*, 2, 185—221, 1965.
7. JONES M. C.: Mycoplasma pneumoniae infections. (Correspondence) *Brit. Med. J.*, 1, 5 791, p. 52, 1972.
8. KAGAN G. Y. et all.: Mycoplasma-virus infection in experiments *in vitro* and *in vivo*. *Xth Intern. Congr. Microbiol.*, Mexico, 1970.
9. KAHANE I., ROZIN S.: Immunological analysis of *Mycoplasma* membranes. *J. Bact.* *100*, 1, 187—194, 1969.
10. KENNY G. E.: Occurence and specificity of serologically active lipids in glicolytic *Mycoplasma* species. *Xth Intern. Congr. Microbiol.*, Mexico, 1970.
11. KANGILASKI J.: Mycoplasmas in arthritis and urethritis. *JAMA*, *227*, 2, p. 194, 1974.
12. McCORMACK W. M. et all.: Isolation of genital Mycoplasmas from blood obtained shortly after vaginal delivery. *Lancet*, 7 907, p. 596, 1975.
13. MEIER J., ADAM O.: Mycoplasmas in inflammatory diseases of the respiratory tract. *Münch. med. Wschr.*, *117*, 37, p. 1 467, 1975.
14. METZ H.: The importance of *Mycoplasma* in infectious processes. *Münch. med. Wschr.* *118*, 26, p. 849, 1976.
15. MIGUERES J., JOVER A.: Pneumonies à *Mycoplasma pneumoniae*. *Rev. du Practicien*, nr. 37, 1974.
16. MUELAS J. M., ALES J.: Method for detecting *Mycoplasma* and bacterial L-form colonies in relief with an ordinary light microscope by means of oblique light. *Appl. Microbiol.*, *25*, 3, p. 484, 1973.
17. PEROL Y., LATRILLE J.: Diagnostic biologic des infections humaines à Mycoplasmes. *Méd. Malad. Infect.*, *5*, 5, 265—267, 1975.
18. RIFFAT G. et all.: Pleurésie hémorragique à *Mycoplasma pneumoniae*. *Presse Méd.*, *77*, 56, 2 153—2 154, 1969.
19. SOHIER R., SEPETJION M.: Les infections à Mycoplasmas chez l'homme. *Presse Méd.*, 76, 52, 1 457—1 458, 1968.

---

* Treceri repetate pe medii artificiale permit obținerea de tulpini de *M. pneumoniae* cu virulență atenuată pentru om.

20. TAYLOR-ROBINSON D. et all. : Serologic response to *M. pneumoniae* infection. 11. Significance of antibody measures by different techniques. *Am. J. Epidemiol.*, *84*, 2, 301–303, 1966.
21. THIVOLET Y. et all. : Rôle des mycoplasmes dans les uretrites non gonococciques. *Presse Méd.*, *76*, 37, 1 775–1 776, 1968.
22. * * *: Infections à Mycoplasmas, certaines, probables ou posibles. *Spectrum*, *12*, 6, 61–69, 1969.
23 * * *: Centre international de référence pour les mycoplasme. *Chronique OMS*, *28*, 9, p. 460, 1974.

Partea a V-a

VIROLOGIE MEDICALĂ

XXXVI. DEFINIŢIA ŞI DELIMITAREA OBIECTULUI DE STUDIU

1. CONCEPTUL DE VIRUS

Studiile strălucite ale lui Pasteur, Koch şi elevilor lor au stabilit, la sfîrşitul secolului al XIX-lea, etiologia bacteriană a multor boli infecţioase ale omului şi animalelor lui domestice. Pentru multe boli însă, între care unele bine cunoscute de milenii cum sînt variola, herpesul, oreionul, turbarea, zona, nu s-a putut găsi drept agent cauzal vreo bacterie, fung sau protozoar.

Tot Pasteur însă, în cercetările nefructuoase de a pune în evidenţă agentul turbării, afirmă (1884) că acesta trebuie să fie ,,un microorganism infinitesimal de mic''. Ipoteza este confirmată de D.I. Ivanovski care, în 1892, demonstrează că ,,mozaicul'' tutunului este o boală cauzată de un agent atît de mic încît trece prin filtrele care reţin cele mai mici bacterii. Noţiunea de filtrabilitate a servit pentru diferenţierea de bacterii a acestei noi categorii de agenţi patogeni.

Astfel, Loefler şi Frosch, în 1898, în febra aftoasă a bovideelor, J. Carol împreună cu Walter Reed (1901) în febra galbenă, Remlinger în 1903 în turbare, pun în evidenţă faptul că agenţii infecţioşi respectivi sînt filtrabili

În următoarele 3—4 decenii, numeroşi agenţi cu caractere similare au fost evidenţiaţi prin inocularea la gazdele de laborator de filtrate lipsite de bacterii obţinute din suspensii de organe sau fluide, provenind de la gazde naturale (animale, plante, bacterii) în boli infecţioase de etiologie pînă atunci necunoscută. Această nouă categorie de agenţi a fost iniţial denumită ,,virusuri filtrabile ultramicroscopice'', apoi ,,virusuri ultrafiltrabile'' şi în cele din urmă ,,virusuri''. În stadiul actual al cunoştinţelor se poate postula că toate speciile de organisme unicelulare sau pluricelulare sînt parazitate de puţine sau multe specii de virusuri cauzînd infecţii inaparente ori viroze (boli virale) uşoare sau severe.

Descoperirea în 1915 de către Twort şi, independent, în 1917 de d'Herelle, a bacteriofagului şi a fenomenului de liză transmisibilă, a furnizat cercetătorilor un model unic de studiu al automişcării materiei vii la nivel celular şi molecular, *sistemul virus-celulă gazdă*. Studiile pe modelul fag-bacterie au permis lui Schlesinger, în 1930, să arate că particula de fag este alcătuită din acid dezoxiribonucleic (DNA) şi proteină şi lui Hershey şi Chase, în

1932, să demonstreze că molecula de DNA este singurul determinant al caracterelor fenotipice.

Înţelegerea corectă a caracterului particular al acestor noi forme de viaţă este rezultatul acumulării treptate de cunoştinţe în domenii variate ale cunoaşterii iar rezultatele obţinute au ridicat studiul virusurilor (*Virologia*) la treapta de ştiinţă ,,transdisciplinară'' graţie căreia s-au precizat mecanismele replicării acizilor nucleici şi ale sintezei proteinelor inclusiv reglarea acestor procese, ale mutaţiei şi ale recombinării genetice.

Înţelegerea completă a naturii virusurilor a fost posibilă deci pe fondul constituit de datele experimentale şi de observaţie acumulate în timp cu privire la citologia comparată, culese cu microscopul optic, extinse apoi la structurile subcelulare graţie microscopiei electronice şi urmat de definirea biochimică şi biofizică a proprietăţilor fundamentale ale structurilor celulare.

Invers, studiul interacţiunii virus-celulă a permis identificarea multor aspecte de structură şi funcţie celulară.

2. DEFINIŢIA VIRUSULUI

Virusurile constituie un regn aparte, VIRA, datorită caracterelor de structură şi funcţie care le deosebesc fundamental de microorganismele procariote şi eucariote (tabel 1).

O definiţie satisfăcătoare a virusurilor formulată printr-o frază sau paragraf care să exprime atît totalitatea stărilor sale intracelulare cît şi formele extracelulare nu poate fi elaborată.

Lwoff (1957) * şi Luria (1959) ** scot în evidenţă proprietăţile esenţiale ale virusurilor care sînt definite ca entităţi a căror genom este constituit dintr-un acid nucleic, *DNA* sau *RNA* ***, care se reproduce în celule vii a căror maşinărie biochimică o orientează spre sinteza de *virioni*, structuri particulare specifice conţinînd genomul viral pe care îl transferă la alte celule.

În baza acestor definiţii — virusurile sînt clar diferenţiate de principiul transformant (DNA) al pneumococului, de rickettsii, chlamydii şi mycoplasme. Mai dificilă apare însă delimitarea faţă de *factorii de transfer* (FT) bacterieni care de asemenea au un singur acid nucleic, se multiplică intracelular, cauzează conversia antigenică a gazdei şi determină sinteza unui aparat care facilitează infecţia altor celule; spre deosebire însă de virusuri, FT nu au o fază liberă extracelulară sub formă de virion infectant. Această din urmă deosebire dispare odată cu descoperirea de către Diener în 1971 a *viroidului* care este RNA 10 S liber cu activitate infectantă înalt specifică.

---

* ,,Virusurile sînt entităţi potenţial patogene care au o fază infecţioasă, posedă un singur tip de acid nucleic, multiplică sub formă de material genetic, nu cresc, nu se divid şi sînt lipsite de sistem Lippman'' (Lwoff, A., 1957: The Concept of a Virus. *J. gen. Microbiol.*, *17*, 239—253).

** Virusurile sînt ,,elemente de material genetic care pot să determine în celulele în care se reproduc biosinteza unui aparat specific în vederea propriului lor transfer în alte celule'' (Luria, S. 1959: Viruses as infective genetic materials. În ,,*Immunity and virus Infection*'' (Editor V. Najjar. New Jork: John Wiley).

*** In 1972, Uniunea Internaţională de Biochimie (IUB) recomandă folosirea prescurtărilor DNA şi RNA pentru acid dezoxiribo- şi, respectiv, ribonucleic, indiferent de limba în care este scris textul (Diem, K. şi Lentner, C. editori: *Tables scientifiques*, ediţia a 7-a, pag. 359, 1972, Ciba-Geigy, Basel.)

Cele mai cuprinzătoare definiții rămîn încă acelea date de Lwoff și de Luria din care se desprind două elemente cardinale: materialul genetic viral (acidul nucleic) pătruns în celula gazdă se comportă ca o parte componentă a celulei care furnizează informația necesară pentru a programa sinteza de macromolecule specifice: este exprimat fenotipic și este replicat.

Virusul există și sub o formă extracelulară — *virionul* — care este un produs al celulei gazdă sub controlul genetic al însăși virusului și care servește de vehicul pentru a transporta genomul viral și a-l insera în altă celulă gazdă.

Virusurile nu conțin ribozomi funcționali (aparat sintetizînd proteine) sau alte organite celulare * (mitocondrii).

Virusurile nu posedă enzime pentru metabolismul energetic (enzime generatoare de legături de mare energie) și sînt lipsite de genele pentru asemenea enzime.

La virusurile RNA toată informația genetică este codificată în RNA ceea ce constituie o situație unică în biologie.

În consecință, virionul extracelular este metabolic inert.

Virusurile se reproduc numai atunci cînd sînt *în* celulă deci sînt parazite intracelulare de necesitate, obligatorii.

Pentru unele virusuri numai (Enterovirus; Togavirus), acidul nucleic izolat este infecțios și ca urmare virusul respectiv poate fi generat intracelular pornind de la o singură moleculă de acid nucleic (virusuri cu genom „pozitiv").

Virusurile nu au acid muramic în învelișurile externe de aceea nu sînt sensibile la multe antibiotice.

Tabelul 89

Caractere distinctive ale virusurilor și altor microorganisme

Caractere	Bacterii	Mycoplasme	Rickettsii	Chlamydii	Virusuri
Tipuri de acid nucleic	DNA și multiple specii de RNA				DNA sau RNA
Cultivare pe medii nevii	+	+	−	−	−
Creștere	+	+	+	+	−
Multiplicare prin diviziune	+	+	+	+	−
Prezența de ribozomi funcționali	+	+	+	+	−
Enzime pentru metabolism energetic	+	+	+	−	−
Gene pentru enzimele producătoare de energie	+	+	+	−	−
Sensibilitate la antibiotice	+	+	+	+	−
Sensibilitate la interferon	−	−	−	+	+

---

* Unii membri din genul *Arenavirus* conțin cîțiva ribozomi derivați din celula gazdă.

Din punct de vedere practic este convenabil a se considera virusurile drept microorganisme patogene, cauzatoare de boală.

În rezumat: virusurile sînt particule infecţioase subcelulare (de regulă nucleoproteine) constituind agenţi potenţial patogeni a căror replicare în celula gazdă determină reacţii caracteristice atît în celula gazdă cît şi în organismul gazdă.

Virusurile sînt sisteme genetice independente dotate cu continuitate genetică şi variabilitate genetică şi care de aceea posedă o istorie evolutivă proprie.

Pentru replicare, virusul utilizează maşinăria de sinteze a celulei vii gazdă dirijînd-o spre sinteza de virioni, particule specializate care conţin genomul viral (acid nucleic) şi componentele structurale (proteine, înveliş) care permit transferul acestuia la alte celule gazdă.

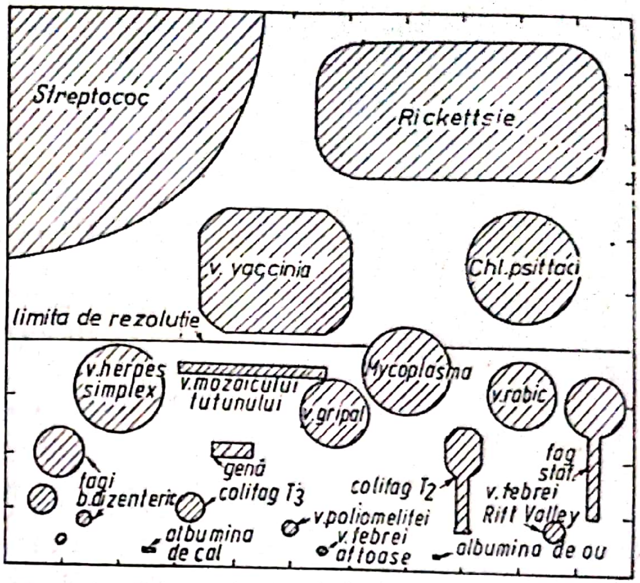

Streptococ
Rickettsie
v. vaccinia
Chl.psittaci
limita de rezolutie
v.herpes simplex
v.mozaicului tutunului
v.gripal
Mycoplasma
v.rabic
fagi b.dizenteric
genă
colifag T3
colifag T2
fag stat.
v.febrei Rift Valley
v.poliomelitei
v.febrei aftoase
albumina de cal
albumina de ou

Fig. 147: Dimensiuni relative a microorganismelor reprezentative.

Cu excepţia vacciniei, virusurile pot fi văzute numai cu microscopul electronic. Distanţele marcate pe laturi sînt de 100 nm. (după *W. Burrows*)

3. STRUCTURA VIRUSULUI

O particulă de virus matur infectant sau *virion* este alcătuită dintr-un *miez* (*genofor*) conţinînd genomul viral reprezentat de DNA sau RNA (niciodată ambele) inclus într-o coajă protectoare de molecule proteice denumită *capsidă*. Acidul nucleic şi proteina sînt integrate formînd o *nucleocapsidă* cu o simetrie structrală precis definită de tip *cubică*, *helicală* sau *complexă*.

La unele virusuri, în stadiile tardive ale maturării intracelulare virionii capătă un *înveliş* suplimentar, *peplos*, format din carbohidraţi-proteine-lipide, derivat, în cea mai mare parte, din membranele celulei gazdă (fig. 147).

Proteinele de înveliş *stabilizează* protejînd acidul nucleic în mediul ambiant (de exemplu faţă de nucleaze) şi *mijlocesc ataşarea* la receptorii membranei şi, probabil, *penetrarea* virionului într-o nouă celulă gazdă.

Proteinele virale *sînt antigenice* şi anticorpii faţă de proteinele din înveliş prin intermediul cărora se realizează ataşarea la receptorii celulei gazdă vor neutraliza virionul.

Prin pătrunderea în celula gazdă virionul încetează să existe ca atare deoarece este decapsidat şi pune în libertate acidul nucleic viral, care va determina în celulă fie multiplicarea virală (faza vegetativă), fie starea de „provirus".

Cele mai simple virusuri, „*viroidul*" lui Diener (1971), sînt molecule de acid nucleic, „goale", posibil asociate cu anumite componente celulare, și care se transmit ca atare de la o gazdă la alta. ,,Viroidul'' cauzînd o boală cartofului, numit ,,*potato spindle tuber virus*'', este un RNA infecțios cu ,,greutate'' moleculară 50 000 daltoni *.

La cealaltă extremă, virusurile animale cele mai mari — poxvirusuri, retrovirusuri — au o structură complexă și conțin numeroase polipeptide diferite inclusiv cîteva enzime.

În funcție de complexitatea structurală dimensiunile virusurilor variază între 10 nm și 300 nm **.

4. CLASIFICĂRI

Volumul de cunoștințe acumulat treptat cu privire la caracterele virusurilor a permis trecerea de la clasificări bazate exclusiv pe criterii utile pentru practică, cum sînt de exemplu împărțirea în funcție de *gazde naturale* (virusurile omului și animalelor, bacteriofagii și actinomicofagii ; viru-

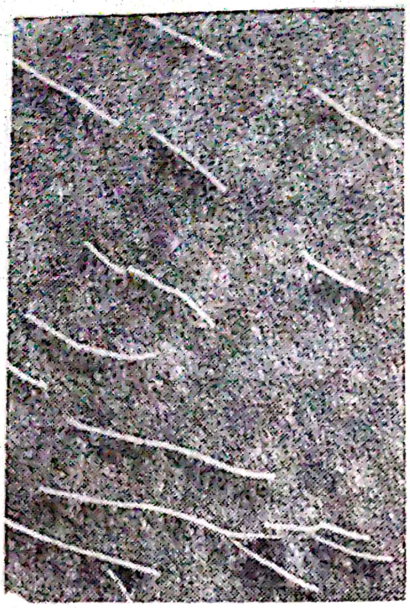


Fig. 148 : Virusul mozaicului tutunului.

Electronomicrografie după umbrire cu vapori de metal (× 97 000) (după *W. Burrows*)

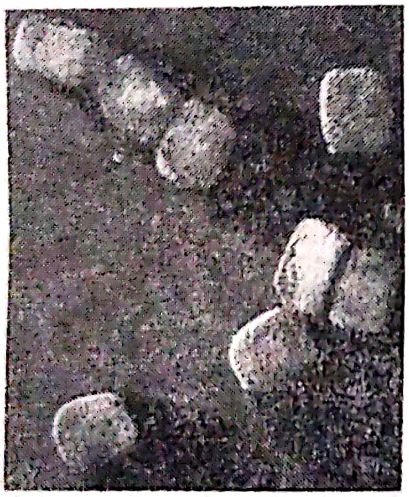


Fig. 149 : Virusul vaccinia.

Electronomicrografie după umbrire cu vapori de metal (× 57 500) (după *W. Burrows*)

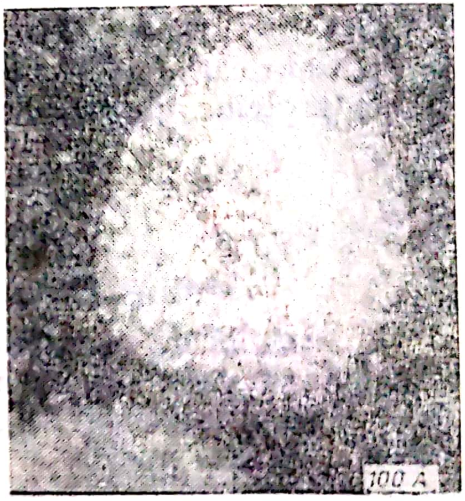


Fig. 150 : Virus gripal.

Particulă intactă ,,colorată negativ'' cu fosfotungstat ; învelișul extern prezintă proiecții de suprafață (hemaglutinină și neuraminidază). (*Hoyle, L., Horne, R.W. Waterson, A.P.*)

---

* Termenul de ,,greutate'' moleculară nu este întru totul corect întrucît nu este folosit pentru a exprima *greutatea* (în realitate *masa*) unei anumite molecule, ci *rația* între masa acelei molecule și masa unui atom de hidrogen. În consecință, masa moleculară relativă a unei substanțe se exprimă în unități *mol* și nu în *daltoni*, această din urmă măsurătoare fiind reținută pentru uz practic.

** metrul (*m*), în Sistemul internațional (SI) de unități, are următorii submultipli :
*mili*metru (*mm*) $= 10^{-3}$ m ; (1 mm $= 10^{-3}$ m) ; *micro*metru (*µm*) $= 10^{-6}$ m ; (1 µm $= 10^{-3}$ mm) ; *nano*metru (*nm*) $= 10^{-9}$ m ; (1 nm $= 10^{-3}$ µm) ; *pico*metru (*pm*) $= 10^{-12}$ m ; (1 pm $= 10^{-3}$ nm) ; *femto*metru (fm) $= 10^{-15}$ m ; (1 fm $= 10^{-3}$ pm) ; *atto*metru (am) $= 10^{-18}$ m ; (1 am $= 10^{-3}$ fm).
Notă : aceleași subdiviziuni și prefixe se folosesc pentru masă, capacitate, timp, curent electric, temperatură termodinamică, intensitate luminoasă, cantitate de substanță, avînd ca bază unitățile : *gramul*, *litrul*, *secunda*, *amperul*, *kelvin*, *candela* și respectiv *molul* (ex. : nanogram, microlitru, picosecunda etc.).

Datele obținute prin microscopie electronică și prin alte tehnici moderne de măsurare se exprimă uzual în nanometri, nanograme, microlitri, micromoli.

surile insectelor, virusurile plantelor), de *afinitățile tisulare* sau de *organele-țintă* a căror lezare de către virus determină semnele clinice caracteristice ale virozei (virusuri respiratorii virusuri neurotrope virusuri epiteliotrope; hepatotrope etc.), la ordonări taxonomice bazate pe proprietățile biologice și biofizice fundamentale a membrilor regnului VIRA, în cadrul grupelor delimitate de gazdele naturale (tabel 90).

Clasificarea virusurilor vertebratelor. Încă nu există suficientă informație privind relațiile filogenetice între membrii diferitelor grupe de virusuri pentru a permite elaborarea unei nomenclaturi binominale latinizate exprimînd un sistem ierarhizat de clasificare așa cum a fost relativ operat pentru regnul Procariotae și mai ales pentru Schizomicetae (bacterii). Comitetul Internațional de Taxonomie a Virusurilor (ICTV) actualizează, în 1976, clasificarea și nomenclatura virusurilor în acord cu progresele rapide ale cunoștințelor în toate domeniile semnificative (biologia moleculară, biochimia, genetica), pentru a realiza o taxonomie științifică și logică a virusurilor. Provizional, au fost constituite *familii* a căror denumire capătă sufixul — *idae* (exemplu: herpesvir*idae*), *genuri* primind denumiri cu sufixul — *virus* (exemplu: adeno*virus*, herpes*virus*, pox*virus* etc.) și cu indicarea *speciei tip* care, alături de denumirea comună, primește un nume latinizat și un număr indicînd tipul antigenic. De exemplu denumirea comună: virus Herpes simplex tip 1, denumirea latinizată: *Herpes-virus h-1* în care litera *h* * este prima din cuvîntul latin *homo* care indică gazda naturală (tabel 91 și 92).

Clasificarea curent acceptată ține seama, în ordine de preferință, de următoarele caracteristici:

1) Tipul de acid nucleic, DNA sau RNA, structura și proprietățile acestuia: mono- sau bi-spiral, ciclic sau linear, monomolecular sau fragmentat, cu genom ,,pozitiv'' ** sau ,,negativ'' ***.

2) Dimensiuni și morfologie, în primul rînd tipul de simetrie a capsidei, număr de capsomere și prezența de învelișuri.

3) Comportament la agenți fizici și chimici, în primul rînd la eter.

4) Caractere antigenice.

5) Modul de transmitere în natură.

6) Gazda, țesutul, celula pentru care prezintă tropism.

7) Leziuni celulare și leziuni anatomopatologice.

8) Simptome clinice.

ICTV a construit și o criptogramă pentru fiecare familie sau gen formată din perechi de simboluri codificînd perechi de proprietăți ca de exemplu: tip de acid nucleic/număr de spire; greutatea moleculară a acidului nucleic/procent acid nucleic în virion; forma virionului/forma nucleocapsidei; gazda/vector etc.

---

* *a*: avis; *b*: bos; *h*: homo; *m*: mus; *o*: ovis; *r*: rattus; *s*: sylvilagus etc.

** Sînt considerate cu *genom ,,pozitiv''* virusurile a căror genom, în totalitate sau în parte, este *transcris* și, în același timp, acționează ca mesager adică este *translat* de aparatul enzimatic preexistent în celula gazdă. Acidul lor nucleic, în stare pură, este deci infectant. Situație unică în biologie cînd molecula de acid nucleic este *depozitarul* și în acelaș timp *mesagerul* informației genetice.

*** Sînt cu *genom ,,negativ''* virusurile a căror acid nucleic nu este infectant dacă nu sînt introduse în celulă concomitent cu o *nouă transcriptază asociată virionului* și care transferă informația unei alte molecule de acid nucleic, complementară.

Tabelul 90

Clasificarea virusurilor vertebratelor în funcție de proprietăți chimice și fizice

Tip de acid nucleic	Tip de simetrie a capsidei[a]	Virion gol sau învelit[b]	Sensibilitate la eter	Număr de capsomere[c]	Dimens. virionului (în *nm*)[d]	Greutate moleculară a ac. nucleic în virion (10^6 daltoni)	Număr aprox. de gene	Grup de virus
DNA	icosahedric	gol	rezistent	32	18—22	1.2—1.8	7	Parvovirus [1]
				72	43—53	3—5	10	Papovavirus [2]
				252	70—90	20—29	60	Adenovirus [3]
		învelit	sensibil	162	100[e]	100	250	Herpesvirus [4]
	complex	învelișuri complexe			230 × 300	160	400	Poxvirus [5]
RNA	icosahedric	gol	rezistent	32	20—30	2.6	14	Picornavirus [6]
				32	60—80	15	40	Orbivirus [7]
				92	75—80	15	40	Reovirus [8]
		învelit	sensibil	32	35—40	4	15	Togavirus [9]
	necunoscut	învelit	sensibil		50—150	?		Arenavirus [10]
					70—120	?		Coronavirus [11]
					~ 100	10	50	Oncornavirus [12]
	helical	învelit	sensibil		90—120	4	15	Orthomyxovirus [13]
					150—300	7	35	Paramyxovirus [14]
					70 × 150	4	25	Rhabdovirus [15]

[a] *Asamblarea* capsidei la virusurile *DNA* are loc *în nucleu* (cu excepția poxvirusurilor la care sediul asamblării este în citoplasmă); sinteza proteinelor capsidei are loc în citoplasmă. *Asamblarea* capsidei la virusurile RNA are loc în *citoplasmă*.

[b] *Învelirea* nucleopsidei *herpesvirusurilor* are loc la nivelul *membranei nucleare*. *Coronavirusurile* și *Flavivirusurile* (gen în fam. Togavirus) sînt învelite la nivelul *membranelor intracitoplasmatice*.
Orthomyxo-, *Paramyxo-* și *Rhabdovirusurile* sînt învelite în timpul „înmuguririi" la nivelul *membranei citoplasmice*.

[c] Din numărul total de capsomere care compun icosaedrul, 12 sînt *pentamere* (plasate în colțuri) și restul sînt *hexamere* (plasate pe fețe).

[d] Diametru sau diametru × lungime.

[e] Diametrul nucleocapsidei; virionul învelit are 100—150 nm.

[1] *Parvo* = mic (puțin acid nucleic).

[2] *Pa*(piloma), *po*(lyoma), *va*(cuolizant).

[3] *Adeno*: glandă (țesutul pentru care virusul are afinitate).

[4] *Herpes* = a șerpui (caracter al leziunii).

[5] *Pox-* (plural de la *pock*) = leziune cutanată produsă de virus variolic = pustulă, ulcer.

[6] *Pico* = prefix pentru a indica submultiplu de ordinul 10^{-12}; *rna* = *r*ibo*n*ucleic *a*cid.

[7] *Orbi* = suprafață circulară, inel.

[8] *R* (espirator) — *E* (nteric) — *O* (vocala de legătură).

[9] *Toga* = togă, manta, învelitoare (sînt: *Ar*bovirusuri = *Ar*thropod*bo*rne: virusuri transmise de artropode).

[10] *Arenosus* = nisipos (virusul conține „grăunțe"; cîțiva ribozomi preluați din celula gazdă).

[11] *Corona* = coroană (virusul posedă proiecții caracteristice pe membrană = peplomere).

[12] *Onco*(s) = tumoare; *rna* (acid ribonucleic). Ribovirusuri oncogene din fam. Retroviridae (retro = îndărăt), caracterizate de prezența reverstranscriptazei în virion.

[13] *Myxa* = mucus (virusuri cu afinitate pentru mucoase).

[14] *Para* = lîngă.

[15] *Rhabdos* = baston.

Tabelul 91

DNA virusuri : familii, genuri, specii-tip. Caracterele genului şi gazda naturală

Familia	Genul	Specia tip		Genomul			Gazdă
		Denumirea comună	Denumirea latinizată	G.m. *	Natură**	Procent	
Parvoviridae	A. Parvovirus (picodnavirus)	Virusul latent al şobolanului	Parvovirus r-1	1.2—1.8	S, L	35	şobolan, om
	Adeno-associated satellite virus	Virusul satelit adenoasociat		1.2—1.8	S, L	35	om
Papovaviridae	Papillomavirus	Virusul papilomului iepurelui	Papillomavirus s—1	5	D, C	12	iepure, om
	Polyomavirus	Virusul polyoma şoarecelui	Polyomavirus m-1	3	D, C	12	şoarece, om
Adenoviridae	Mastadenovirus	Adenovirus tip 1	Adenovirus h-1	20—25	D, L	12—14	om
	Aviadenovirus	Adenovirus aviar		30	D, L	17	păsări
Herpesviridae	Herpesvirus	Virusul herpes simplex tip 1	Herpesvirus h-1	100	D, L	7	om
Poxviridae	Orthopoxvirus	Virusul vaccinia	Poxvirus b-1	150	D, L	5—7.5	bovine
	Leporipoxvirus	Virusul variolei iepurelui		150	D, L	5—7.5	iepure
	Avipoxvirus	Virusul variolei păsărilor		200	D, L	5—7.5	păsări
	Entomopoxvirus	Virus al insectelor		140—240	D. L	5—6	insecte

* în milioane de daltoni; în toate cazurile menţionate în tabel genomul este constituit dintr-o singură moleculă.

** D, dubluspiral; S, monospiral; C, circular; L, linear.

Criptograma pentru genul *Parvovirus* ar fi D/1 ; 1,2—1,8/35 ; S/S, V/O, ceea ce înseamnă că acidul nucleic este DNA monospiral avînd greutate moleculară de 1,2—1,8 × 10^6 daltoni şi reprezentînd 35% din virion ; atît forma virionului cît şi a nucleocapsidei sînt sferice iar genul parvovirus infectează vertebrate la care se transmite fără intermediul vectorilor.

Criptograma genului *Adenovirus* este D/2 ; 20—29/12—14 ; S/S ; V/O, pentru genul *Orthomyxovirus* R/1 ; 4/1 ; S/E ; V/O, pentru familia *Picornaviridae* R/1 ; 2.5 — 2.8/20—30 ; S/S ; V/O etc.

Au fost astfel constituite vreo 20 grupe taxonomice (taxe) de virusuri ale vertebratelor care deocamdată nu depăşesc familia, grupate în funcţie de tipul de acid nucleic în *DNA virusuri* (Dezoxiribovirusuri) (tabel 91) şi *RNA virusuri* (Ribovirusuri) (tabel 92).

Tabelul 92

RNA virusuri: familii, genuri, specii-tip. Caracterele genomului și gazda naturală

Familia	Genul	Specia tip		Genomul			Gazdă
		Denumirea comună	Denumirea latinizată	Gr. mol.*	Natură**	Procent	
Picornaviridae	Enterovirus	Poliovirus tip 1	Enterovirus h-polio-1	2.5	S, 1, m	30	om
	Rhinovirus	Rhinovirus 1 A	Rhinovirus h-1a	2.6	S, 1, m	30	om
	Calicivirus	Virusul exantemului vesicular tip A	Calicivirus s-1	2.8	S, 1, m	20–30	porc
Togaviridae	Alphavirus (Arbovirus grup A)	Virusul Sindbis	Alphavirus Sindbis	4	S, 1, m	4–6	om
	Flavivirus (Arbovirus grup B)	Virusul febrei galbene	Flavivirus febricis	4	S, 1, m	7–8	om
	Rubivirus	Virusul rubeolei		4	S, 1, m	7–8	om
Orthomyxoviridae	Influenza virus A	Virusul gripal A	Orthomyxovirus h-1	4	S, 8, c	1	om (și animale)
Paramyxoviridae	Paramyxovirus	Virusul bolii Newcastle	Paramyxovirus a-1	7	S, 1, c	1	păsări,
	Morbillivirus	Virusul rujeolei		6	S, 1, c		om
	Pneumovirus	Virusul respirator sincițial					
Coronaviridae	Coronavirus	Virusul bronșitei infecțioase aviare	Coronavirus a-1	9	S, c	...	păsări, om porcine, rozătoare
Arenaviridae	Arenavirus	Virusul choriomeningitei limfocitare	Arenavirus m-1	3,2–5,6	S, c	...	rozătoare animale
Rhabdoviridae	Rhabdovirus	Virusul stomatitei vesiculare	Rhabdovirus b-1	4	S, 1, c	2	om și animale
Retraviridae	Oncornavirus C	Virusul sarcomului Rous	Leukovirus a-1	10	S, 4, „m"	1–2	păsări șoarece
	Oncornavirus B	Virusul adenocarcinomului mamar la șoarece		10	S, 4, „m"	1–2	șoarece
					D, 10, c	15	om
Reoviridae (Diplornaviridae)	Reovirus	Reovirus tip 1	Rheovirus h-1	15	D, 10, c	...	oaie (om) și animale
	Orbivirus	Bluetongue virus	Orbivirus o-1	15			
	Duovirus	Duovirus sau Rotavirus		15	D, 10, c	...	om (și animale)

---

* În milioane de daltoni

** *S*, monospiral; *D*, dublu spiral; *1, 8, 4, 10* indică numărul de piese de RNA în genom; *m*, sens de RNA mesager (genom „pozitiv"); *c*, sens de RNA complementar (genom „negativ").

Clasificarea mai veche în funcție de caracterele *bolilor acute* clasice cauzate la gazde naturale ca urmare a infecțiilor virale *acute citolitice*, productive, rămîne încă utilă clinicianului, confruntat cu necesitatea stabilirii rapide a diagnosticului și indicarea terapiei, mai înainte de clasarea taxonomică a virusului.

Virozele pot afecta organe specifice ca de exemplu *sistemul nervos* (poliomielita și meningite cauzate de enterovirusuri, rabia, encefalitele prin arbovirusuri, coriomeningita limfocitară etc.), *tractul respirator* (gripa și pneumonia virală date de myxovirusuri, paramyxovirusuri; bronșiolita și laringotraheita date de virus RS și paragripale; febra faringo-conjunctivală dată de adenovirusuri; guturaiul cauzat de rhinovirusuri etc.), *pielea* și *mucoasele* (herpes oral, genital, herpes zoster cauzate de herpesvirusuri; negii prin papovavirus etc.), *ficatul* (hepatita virală tip A și hepatita virală tip B), *glande salivare* (oreionul), *ochiul* (conjunctivita prin adenovirus, virus Newcastle sau keratoconjunctivita cu herpesvirus) sau *boli generalizate*, de regulă manifestate prin exantem și enantem (variola, vaccina, rujeola rubeola, varicela, denga, enteroviroze etc.).

Datele esențiale privind manifestări de patogenitate în raport de grupele de virus și caracteristicile lor mai importante sînt prezentate în tabelele 93 (Dezoxiribovirusuri) și 94 (Ribovirusuri), în care nu sînt însă menționate manifestările infecțiilor virale *cronice-ciclice* sau *persistente* (de ex.: panencefalita sclerozantă subacută, „demențele" transmisibile, tumori virale etc), ca forme particulare ale infecțiilor cu virusuri clasice sau cauzate de virusuri „lente" („slow" virus).

Tabelul 93

Dezoxiribovirusuri : Noțiuni esențiale (după Cruickshank, R și colab.)

Grup	Virusuri reprezentative	Caractere importante	Patogenitate (boli)
1	2	3	4
Poxvirus	Variola; vaccinia. Molluscum contagiosum. Virusuri diferite a variolelor animalelor și păsărilor Fibromatoza și myxomatoza iepurilor. Ectromelia la șoarece.	Virion în formă de cărămidă 300 × 230 nm (vizibil la microscopul fotonic). Rezistă la uscare, nedefinit. Uscat rezistă 10 min la 100°C. Multiplică în embrion găină. Formează incluzii intracitoplasmice. Produce o hemaglutinină (lipoproteină virus-specifică nestructurală) care aglutinează globule roșii de pasăre. Posedă un antigen comun nucleoproteinic.	Variola, vaccina, molluscum contagiosum, variola vacilor (cowpox), nodulii lăptarilor. Leziuni localizate ale pielii, infecții generalizate cu exantem și enantem. Cowpox-ul este transmisibil la om. Myxomatoza la iepuri. Variola (ectromelia) șoarecilor.

Tabelul 93 (continuare)

1	2	3	4
Herpesvirus	Virusul herpes simplex. Virus varicela-Zoster. Virus Epstein-Barr. Cytomegalovirus. Virusul B (cercopithec), (40 virusuri diferite la 22 gazde naturale vertebrate).	Nucleocapsidă icosahedrică (162 capsomere) şi înveliş sensibil la eter (lipide). Replicare în nucleu. Formează incluzii intranucleare Cowdry tip A. Labil la temperatura camerei. Nu este hemaglutinant.	Leziuni veziculare pe piele şi mucoase. Infecţii latente, persistente uneori toată viaţa, cu recrudescenţe (în prezenţa anticorpilor circulanţi). Stomatită. Encefalită. Varicela, mononucleoza infecţioasă. Herpesvirus tip 2 şi virusul Epstein-Barr sînt asociate cu tumori la om. La animale, multiple tumori
Adenovirus	Numeroase (32) serotipuri cauzînd infecţii la om; tulpini izolate la simiene, bovidee, porcine, păsări, murine, canide.	Icosahedru gol, 252 capsomere (240 hexamere + 12 pentamere) şi proiecţii (fibre terminate cu buton). Replică în nucleu. Rezistă la eter. Toate serotipurile posedă un antigen comun (de grup) fixator de C′. Unele tipuri aglutinează hematii de şobolan, şoarece, om O şi rhesus.	Agenţi ubicvitari dînd infecţii latente ale ţesutului limfoid. Invaginare intestinală şi bronşectazie. Faringită febrilă şi boală acută respiratorie. Pneumonie, conjunctivită şi keratită. Hepatită la cîine. Unele serotipuri cauzează tumori la hamster sugar.
Papovavirus	Virusul negilor la om. Virusul papilomului Shope la iepuri, papilomului la bovine. Virusul vacuolizant la maimuţe (SV40) şi iepuri.	Icosahedru gol. Replică în nucleu; ciclu ontogenetic lent. Rezistă la eter şi la 56°–65°C. Aglutinează multiple specii de eritrocite.	Negii la om şi papilomatoza la iepuri, cîini, bovine, maimuţe. Polyoma: tumoră malignă parotidiană la şoarece. Virusul vacuolizant SV40: infecţie asimptomatică la maimuţă. Potenţial oncogen. La om: leucoencefalopatia multifocală progresivă.
Parvovirus (PicoDNA-virus)	*Genul A* *: (replicare autonomă) — virusuri H (osteolitic la hamster); — virusuri latente ale şobolanului (Kilham rat virus; virus X 14); — virusul minuscul al şoarecelui (MVM); — parvovirusul porcului. *Genul B* (defective): — virusul adeno-satelit (multiplică numai în prezenţa adenovirusului „helper").	Icosahedru gol, 18–22 nm. Rezistă la eter.	Istorie naturală încă necunoscută. Probabil panleucopenia felinelor.

---

* Cuprinde, posibil, şi agenţii gastroenteritei acute nebacteriene (Kapikian, 1972).

Tabelul 94

Ribovirusuri. Noțiuni esențiale (după Cruickshank, R și colab.)

Grup	Virusuri reprezentative	Caractere importante	Patogenitate (boli)
Orthomyxovirus	— virusuri gripale A, B și C — virus gripal porcin, ecvin, aviar (pesta aviară)	Nucleocapsidă filamentoasă tubulară (diam. 8 nm) sintetizată în nucleu; formează un ghem învelit în membrană lipoproteinică străbătută de subunități hemaglutinină (H) și neuraminidază (N), sintetizate în citoplasmă. Variație antigenică (shift și drift) marcantă legată de modificarea H și independent, N. Antigen nucleoproteinic stabil. Maturare la membrana celulei gazdă, prin înmugurire. Sensibil la eter, detergenți, Dactinomycin.	Gripa epidemică și endemică, pneumonie, bronșită
Paramyxovirus	— virusuri paragripale 1-4, — rugeolei, jigodiei, pestei bovine; — oreionului, pseudopestei aviare (Newcastle), SV5; — virus RS (respirator sincițial) *	Pleomorfe. Similare myxovirusului însă cu diam. nucleocapsidei: 18 nm. Nucleoproteina și hemaglutinina sintetizate în citoplasmă unde se formează incluzii. Unii membri posedă și neuraminidază. Rezistă la Dactinomycin.	Boli acute respiratorii, bronșită, rinofaringite, crup. Rugeolă. Oreion. Jigodie. Pseudopestă.
Rhabdovirus	— virusul stomatitei veziculare; — virus rabic; — virusuri la plante, insecte, pești, lilieci; — virus Marburg și similare.	Virion alungit în formă de glonț, învelit. Sensibil la eter. Maturare în membrana citoplasmatică. Unii sînt hemaglutinanți.	Turbare la mamifere, stomatita veziculară la bovine. Boli la păstrăv, insecte și plante Virusul Marburg este asimptomatic la maimuță dar foarte patogen pentru om.
Togavirus **	Virusurile febrei galbene, encefalitelor ecvine, febrelor hemoragice denga, de Congo-Krimeea, meningo-encefalitelor de căpușe, etc. (sînt 359 Arbovirusuri recunoscute avînd în comun transmiterea prin artropode, țînțari, căpușe. Majoritatea aparțin la Togavirusuri; apoi la Rhabdovirus, diplornavirus, arenavirus, picornavirus).	Icosaedru învelit în membrană avînd hemaglutinină (proteină) cu proprietăți antigenice comune pentru unele grupe (Alphavirus, Flavivirus etc.).	Meningo-encefalită, limfadenopatie, exanteme, hemoragii; Febră galbenă.
Arenavirus	— virusul choriomeningitei limfocitare (LCM) — virusul Lassa — virusurile febrelor hemoragice sudamericane (Junin, Machupe)	Virion învelit, sensibil la eter. Replică în citoplasmă. Conține cîteva granule (ribozomi preluați din citoplasma gazdei).	Meningite. Encefalite. Febre hemoragice.

---

* Virusul RS are diam. nucleocapsidei de 120 nm; face parte din grupul Pneumovirus.

** Termenul „Arbovirus" nu se referă la o categorie taxonomică ci la caracterul epidemiologic (ecologic) esențial: transmiterea biologică prin artropode hematofage.

Grup	Virusuri reprezentative	Caractere importante	Patogenitate (boli)
Reovirus	Trei sero-tipuri la om, mamifere şi cinci la păsări.	Icosaedru gol (92 capsomere) ARN dublu spiral. Rezistă la eter. Maturare în citoplasmă.	Boală respiratorie, enterică uşoară.
Orbivirus	— virusul bluetongue — virusul African horse sickness — virusul febrei de căpuşă Colorado — Alţi agenţi (la animale, insecte, plante)	Icosaedru gol (32 capsomere) ARN dublu spiral Rezistă la eter.	Boli la animale.
Duovirus (Rotavirus)	Virusul gastroenteritei la sugar şi copil mic. Virusul diareei viţeilor nou-născuţi. Virusul diareei purceilor. Virusul maimuţei SA11.	Icosaedru gol, diametru 60–65 nm. Două straturi de capsomere: stratul intern ca spiţe de roată, cel extern neted. Diferă morfologic, structural şi antigenic de Reo- şi Orbivirus. Asociate cu epiteliul (ciliat) al intestinului subţire.	Gastroenterită acută severă la copii sub 6 ani; 10^9-10^{10} particule de virus per gram materii fecale.
Picornavirus	— Enterovirus*(71): 3 polio, peste 33 ECHO şi 31 Coxsackie (25A; 6 B) — Rhinovirus: peste 90 tipuri şi virusul febrei aftoase a bovideelor. — Calicivirus; exantemul vesicular al porcului; picornavirusul felinelor, al focilor.	Icosahedru gol, rezistă la eter, acid. Are 32 capsomere. Stabilizat de Mg, Ca faţă de inactivare termică. Rhinovirusurile sînt labile la pH 5.3 Calicivirus sînt mai mari, morfologie diferită, nestabilizate de Mg, Ca.	Leziuni neuronale şi paralizii (în special polio 1 şi 3), meningita aseptică, mialgie epidemică (Bornholm), herpangină, miocardită, pericardită, guturai, stomatită veziculară cu exantem; conjunctivită acută hemoragică; febră aftoasă.
Oncornavirus (Retroviridae)	— Grupul leucozelor aviare, sarcom Rous, grupul leucemiilor murine, leucoze la feline; — adenocarcinomul mamar la şoarece (Bittner); — Spumavirinae („foamy" virusuri) ** — Lentivirinae (Visna/maedi)	Superficial asemănătoare myxovirusurilor. Conţin urme de ADN celular, enzime (revers-transcriptază), polimerază, nucleează. Sînt oncogene: induc transformarea malignă a celulelor cu formare de antigene şi enzime noi, şi pierderea inhibiţiei de contact. Nu sînt citocide.	Leucemii, mieloblastoze şi sarcome la păsări, şoarece, pisică.
Coronavirus	Virusuri umane, murine, aviare, porcine, bovine.	Morfologie particulară, asemănătoare rhabdovirusurilor cu proiecţii de suprafaţă lungi (10 nm) sau sub formă de baston. Nucleoproteina este sintetizată în citoplasmă şi se maturează prin înmugurire în vesicule citoplasmatice. Multiplică în citoplasma celulelor epiteliale embrionare.	Rinite, bronşite şi alte infecţii acute respiratorii. Bronşita infecţioasă aviară. Hepatită la şoarece. Pneumonia la şobolani. Gastroenterita la porc şi viţei.

---

* Cuprinde ,posibil, şi *virusul hepatitei tip A* (Feinstone, 1973)

** Deşi posedă în virion reverstranscriptază şi formează un DNA intermediar în replicare, aceste virusuri ubicvitare nu au fost demonstrate a fi oncogene.

5. EVOLUŢIA VIRUSURILOR

Pentru organismele *procaryote*, grupările observate azi par să constituie un segment coerent de ramuri terminale a unui arbore evoluţionar.

În ceea ce priveşte originea *virusurilor* sînt formulate trei ipoteze:

1) *Virusurile sînt nucleoproteine devenite parazite a primelor organisme celulare* (*protovirusuri*) şi ar fi evoluat odată cu gazdele astfel încît virusurile observate azi sînt descendenţii structurilor subcelulare iniţiale. Virusurile herpetice, ca şi alte virusuri mari, sînt probabil exemple de asemenea origine şi mod de evoluţie: acidul lor nucleic are caracteristici (greutate moleculară, procente şi secvenţa bazelor) total diferite de acelea ale gazdei. Fiind paraziţi intracelulari obligatorii (în gazde vii), virusurile actuale sînt expresia unui proces istoric evolutiv în care s-au stabilit interrelaţii virus-gazdă cu un grad de „toleranţă" reciprocă, adică virusuri care nu-şi desfiinţează complet gazdele sau invers.

2) *Virusurile sînt componente celulare* („*gene*" *sau forme replicative intermediare*) *care au devenit autonome* în sensul că sînt replicate fără control celular, din materialul celular pînă la epuizarea acestuia. Autonomia de replicare se completează apoi cu informaţia pentru sinteza capsidei.

Există virusuri fabricate de către celule vegetale (plante) care nu sînt „patogene" pentru gazda naturală la care apar drept constituenţi normali dar care, trecute pe alte gazde, susceptibile, se comportă ca virusurile exogene patogene.

În mod similar se comportă virusul rubeolic în ţesuturile nou-născutului infectat intrauterin; virusuri oncogene pot persista în celule gazdă ca gene reprimate (genom viral reprimat, integrat în genom gazdă şi replicat sincron cu acizii nucleici gazdă).

Acidul nucleic al virusurilor mici (picoRNAvirus; picoDNAvirus) se aseamănă structural cu acela al gazdei naturale.

3) *Virusurile provin din bacterii patogene intracelulare parazite prin involuţie*, degradare în continuare. Asemenea proces pare plauzibil pentru originea rickettsiilor şi chlamydiilor care, prin adaptarea la parazitism intracelular, şi-ar fi pierdut genele care codifică enzimele furnizoare de energie. Nu există date convingătoare despre virusuri care ar fi apărut prin asemenea procese.

Cunoştinţele actuale despre *endosimbioză* aduc în discuţie aspecte noi în ceea ce priveşte relaţiile între viaţa celulară şi „viaţa" virală. Astfel, *Paramecium aurelia*, organism eucariot, poate avea endosimbionţi plasaţi în saci citoplasmatici şi care sînt organisme *procaryote*, bacterii care uneori pot conţine la rîndul lor bacteriofagi.

După unii, însăşi *mitocondriile* şi *plastidele* eucariotelor ar reprezenta o formă extremă de parazitism endosimbiotic prin procaryote. Ca şi *plasmidele* procaryotelor, posedă un genofor foarte mic circular dar cu o compoziţie în baze cu totul diferite de a gazdei.

Relaţiile amintite pledează în sprijinul originii exogene a virusurilor.

Între însăşi virusuri se stabilesc relaţii de tip special: virusurile *adenosatelite* nu se pot replica autonom decît cu condiţia suprainfectării celulei gazdă cu *adenovirus* („*helper*") ceea ce determină sinteza ambelor virusuri.

Replicarea și maturarea virusului defectiv, incapabil a se replica autonom, este urmată de inhibarea virusului „*helper*" grație căruia s-a maturat, ceea ce constituie expresia maximă de parazitism.

6. PLANURI ECOLOGICE ALE INTERRELAȚIEI VIRUS-GAZDĂ

Studiul oricărui virus presupune în primul rînd descripția *caracterelor structurale* (formă, dimensiuni, componente morfologice și arhitectura structurală) și a *caracterelor biochimice* (compoziție chimică : acizi nucleici, proteine structurale și funcționale, carbohidrați, lipide) ale virusului extracelular. Aceste elemente condiționează întreg comportamentul virusului, caracteristicile sale genetice, fiziologice și ecologice exprimate în cursul interacțiunilor complexe ale virionului cu celula gazdă și organismul gazdă.

Aceste interacțiuni au loc pe planuri ecologice diferite și ierarhizate care se integrează și condiționează reciproc.

(i) Astfel, pe planul relațiilor *virus-celulă gazdă* se realizează *morfogeneza* virusului, ciclul replicativ viral. Pe acest plan se descriu evenimentele care au loc la nivel subcelular molecular în cursul infecției celulei cu virus, proces în care se manifestă expresia funcțională fenotipică a genomului viral, cu apariția eventuală de virioni progeni cu genom diferit de genomul parental (*mutanți*, *recombinanți*).

Cunoașterea etapelor și mecanismelor biosintezei virusurilor și a modificărilor genetice care pot avea loc constituie baza *chimioterapiei* și *chimioprofilaxiei* virale.

(ii) Planul ierarhic următor este reprezentat de studiul *relației virus-organism multicelular gazdă* (vertebrat), a proceselor fazice prin care virusul invadează țesuturile gazdei, se multiplică și determină modificări conducînd în final la expresia citologică și anatomo-clinică a infecției virale, rezultat al mecanismelor complexe *patogenetice* și, concomitent, *imunogenetice*. Boala virală, viroza, integrează deci o succesiune considerabilă de relații virus-celulă pînă la epuizarea tuturor celulelor din sistemele și organele receptive, accesibile virusului în structura organismului gazdă. Cunoașterea modificărilor pe aceste planuri permite elaborarea metodologiei diagnosticului de laborator și conduitei terapeutice.

(iii) În sfîrșit, al treilea plan ecologic, care integrează planurile precedente fiind la rîndul său condiționat de acestea, este reprezentat de *relația virus-populație gazdă* și presupune totalitatea căilor și mecanismelor prin care virusul eliminat de bolnav sau purtător ajunge să infecteze o nouă gazdă susceptibilă în colectivitate; acest plan de studiu constituie *epidemiologia* și, corolarul ei, *profilaxia* virozei.

Descripțiile se referă de obicei la *genuri* sau chiar *familii* de virusuri care sînt categorii taxonomice cu caracteristici variabile între limite uneori destul de largi. Singure *tulpina de virus* și *gazda sa* (ex. celula, bolnavul) sînt unități concrete, entități nomenclaturale. Orice proprietate a virusului se poate exprima cantitativ și devine semnificativă prin raportare la tulpina de virus și gazda pe care a fost testată.

BIBLIOGRAFIE

1. ANDREWES C.H. : Fifty Years with Viruses. *Ann. Rev. Microbiol.*, *27*, 1—11, 1973.
2. BERGE T.O. : *International Catalogue of Arboviruses Including Certain Other Viruses of Vertebrates*. U.S. Dpt. Hlth, Ed. and Wlf., DHEW Publication No. (CDC) 75 — 8301, 1975.
3. BROCK T.D. (Ed) : *Milestones in Microbiology*. Prentice-Hall, Inc., New York, 1961.
4. COCKBURN W.Ch. : The Programme of the World Health Organization in Medical Virology. *Prog. Med. Virol.*, *vol. 15*, 159—204, Karger-Basel, 1973.
5. COOPER T. : Infectious Disease : No Cause for Complacency. *J. Infect. Dis.*, *134*, 5, 510—512, 1976.
6. DAVIS D.J. : Measurements of the Prevalence of Viral Infections. *J. Infect. Dis.*, *133*, Suppl. June. A—3, 1976.
7. DIENER T.O. : Viroids. *Adv. Virus. Res.*, *vol. 17*, 295, 1972.
8. FENNER F. : Classification and Nomenclature of Viruses. Second Raport of the International Committee on Taxonomy of Viruses. *Intervirology*, *7*, 11—116, 1976.
9. HORSTMAN D.M. : Medicine and the Two Faces of Virology. *J. Infect. Dis.*, *133*, 2, 233, 1976.
10. LONDON J. : New Horizons in Epidemiology. *Public Health*, *73*, 3, 165, 1959.
11. MADOFF M.A. : Imunizations : Where the Money Should Be? *J. Infect. Dis.*, *133*, 2, 230, 1976.
12. ROIZMAN B. et all. : Provisional Labels for Herpesviruses. *J. Gen. Virol.*, *20*, 417—419, 1973.
13. STEINRAUF L.K. : Preclinical Medical Education. *Science*, *187*, 300, 1975.
14. WOOD H.A. : Viruses with Double-Stranded RNA Genomes. *J. Gen. Virol.*, *20*, 261—285, 1973.
15. W.H.O. STUDY GROUP : A Revised System of Nomenclature for Influenza Viruses. *Bull. Wld Hlth Org.*, *45*, 119—124, 1971.

XXXVII. METODE DE STUDIU ŞI IDENTIFICARE A VIRUSURILOR

Cele mai simple virusuri sînt alcătuite din acid nucleic (DNA sau RNA) şi proteină. Virusurile animale mai complexe posedă în plus lipide, carbohidraţi, poliamine şi o varietate de alţi constituenţi minori (tabel 95).

Virusurile animale sînt sintetizate şi asamblate într-un mediu complex de constituenţi celulari care includ proteine, acizi nucleici, polizaharide, lipide şi un mare număr de substanţe de mică greutate moleculară, anorganice şi organice, care participă la procesele de sinteză şi de furnizare de energie a unei celule în metabolism activ.

Sursele obişnuite de virus sînt omogenatele din celulele, ţesuturile, organele infectate. Identificarea componentelor virale specifice din acest amestec ridică probleme tehnice complexe de separare şi caracterizare.

Un criteriu relativ al eficacităţii metodelor de separare şi purificare a virusurilor poate fi măsurarea activităţii specifice a virusului, adică numărul de unităţi virale infectante obţinut pe unitate de masă proteică, la fiecare

Tabelul 95

Compoziţia chimică a grupelor principale de virusuri animale

Grup	Proteine		Acid nucleic procent	Carbohidrat procent	Lipide procent	Rezistenţă (R) sau sensibilitate (S) la eter
	Număr de polipeptide	procent				
Dezoxiribovirusuri						
Poxvirus	aprox. 20	89	5.6	?	5–7	R
Herpesvirus	cel puţin 8	70	6.5	1.6	22	S
Adenovirus	9–10	88	12	—	0	R
Papovavirus	2 sau 3		7–10	—	0	R
Parvovirus	?	65	35	—	0	R
Ribovirusuri						
Orthomyxovirus	7	60–70	0.86	3.8	24–30	S
Paramyxovirus	6		10	—	+	S
Rhabdovirus	6	?	2	—	++	S
Togavirus	3	40	4.4	3–8	54	S
Reovirus	7	85	14.6	—	—	R
Picornavirus	4	70–80	20–30	—	—	R
Oncornavirus	4	—	1.42	—	47	S
Coronavirus	—					S

etapă a procedeului de purificare folosit (cu condiţia însă ca procedeul să nu anuleze infectivitatea). Metodele de încredere sînt însă acele bazate pe evidenţierea caracterelor fizico-chimice şi biologice omogene ale preparatului final obţinut (vezi mai jos, cap. B).

Tehnici moderne biofizice, biochimice şi imunochimice aplicate în general la studiul proceselor la nivel celular şi macromolecular permit : a) identificarea, reperarea, localizarea în celulă sau ţesut şi b) separarea şi obţinerea în stare purificată a (1) *virionilor* (particule de virus extracelular matur, rezultat final al proceselor de replicare), a (2) *componente virale structurale* (acid nucleic viral, proteine structurale capsidale, hemaglutinine neuraminidază, enzime (polimeraze) asociate virionului etc.) sau a (3) *forme intermediare replicative* virus-induse, apărute în cursul sintezei intracelulare de acizi nucleici (DNA-sau RNA-polimeraze, acid nucleic bispiral etc.) şi de sinteză a proteinelor (mRNA, enzime virus-induse, polipeptide (replicaze) etc.).

Componentele structurale ale virionului pot fi obţinute şi prin dezintegrarea unei suspensii de virioni maturi, extracelulari, în timp ce formele intermediare replicative apar exclusiv în celula infectată în cursul biosintezei virusului.

Caracterizarea componentelor virale permite stabilirea relaţiilor structură-funcţie şi, pe această bază, elaborarea metodologiei diagnosticului, terapiei şi profilaxiei specifice a infecţiei virale.

A. METODE DE IZOLARE ŞI PURIFICARE A VIRUSURILOR ŞI MACROMOLECULELOR VIRALE

Componentele principale ale unui virus sînt *acidul nucleic* şi *proteina*. Întrucît virusurile animale sînt particule relativ mari (20—300 nm) care conţin cantităţi substanţiale de proteină (tabel 95), metodele de purificare sînt (a) metode care se adresează fracţionării proteinelor din matricea lipoidală şi (b) metode fizice, ca de pildă adsorbţia şi ultracentrifugarea, care ţin seama de diferenţe de dimensiune, densitate şi proprietăţi de suprafaţă între particula de virus şi numeroasele componente subcelulare ne-virale, (de „contaminare"), prezente în omogenatul de celule sau ţesut infectat folosit ca sursă de virus.

Problemele tehnice legate de izolarea şi purificarea atît a virusului cît şi a oricăror macromolecule virale presupun deci (a) liberarea, eventual solubilizarea materialului din matricea în care se află inclus (de regulă într-o componentă celulară : membrane, nuclei etc.) şi (b) obţinerea acestuia în stare pură (practic, cu o minimă contaminare cu materiale proteinice, acid-nucleinice şi lipoidale gazdă).

Aceleaşi metode se folosesc pentru liberarea şi obţinerea oricăror alte macromolecule de interes biologic.

1. „SOLUBILIZAREA"*

Se poate face (a) cu ajutorul unor detergenţi şi solvenţi organici, (b) cu energie sonică, (c) digestie proteolitică şi (d) tratare cu săruri simple sau complexe.

---

* Arbitrar, se consideră „solubil" un material macromolecular omogen care nu sedimentează la 105 000 g. Criteriul cel mai riguros însă îl constituie caracterizarea fizico-chimică a produsului.

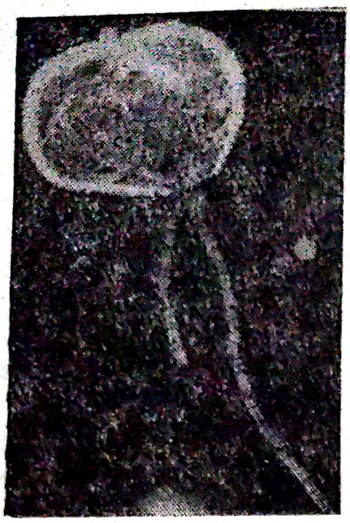


Fig. 151 : Paramyxovirus. Prin invelișul cu proiecții al virionului se eliberează nucleocapsida care are structură spiralară. Electronomicrografie, mărire × 200 000. (*Percira, H.C.* și *Valentine, R.C.*).

Sînt metode neselective deoarece „solubilizează" în același timp mult material gazdă (de „contaminare").

(i) *Detergenții* (Tween — 80, Triton X — 100, Triton X—114, Dezoxycholat și Decyl- sau Dodecyl-sulfat de sodiu (SDS) (*anionici*), Lauroyl sarcosinat de sodiu (SLS) (*cationici*) ca și tratarea cu etanol, n-butanol, eter, cloroform liberează în general materiale în stare coloidală necesitînd prelucrare enzimatică în continuare.

(ii) *Sonicarea*, atunci cînd se folosesc sunete de joasă intensitate (sub 16 000 cicluri/sec), furnizează materiale „solubile" fără să le altereze funcțiile biologice și antigenice, probabil prin depolimerizarea legăturilor necovalente.

Reglînd condițiile de (1) frecvență și intensitate, (2) temperatură, (3) concentrații de celule inclusiv gradul lor de dispersie și (4) durata expunerii, se pot obține diferite macromolecule virale structurale sau funcționale.

(iii) *Digestia cu nucleaze sau enzime proteolitice* (papaină, tripsină) solubilizează activ structurile acid nucleinice și proteice nevirale (de „contaminare") liberînd virusul sau componentele virale; are însă dezavantajul că expunerea prelungită distruge progresiv substratul macromolecular și prin aceasta antigenitatea de suprafață.

Virionul intact rezistă în general atacului nucleazelor atît timp cît are capsidă intactă.

Pepsina poate libera doar virusuri care rezistă la concentrații mari de ioni de hidrogen (*p*H : 2—3) la care este activă enzima (ex. : enterovirus).

Tripsina este activă la *p*H 7—8, valori la care rezistă multe virusuri cu excepția virusurilor mari (poxvirus).

(iv) *Extracția cu săruri* complexe (ex. TRIS; sare de acid 2-hidroxy 3,5 di-iodobenzoic; di-iodosalicilatul de lithiu) sau simple (ex. : 3M KCl) sînt promițătoare pentru liberarea atît a structurilor de membrană cît și interne (nucleoproteine, DNA etc.).

Acizii nucleici virali se pot obține din suspensii purificate de virioni sau din omogenate de celule infectate tratate cu reagenți care rup legăturile între acidul nucleic și proteină și degradează și denaturează proteina inclusiv nucleazele (ex. : metode de extracție cu fenol la rece). Din virusurile cu genom „pozitiv" (cu sens de mRNA) se poate obține astfel acid nucleic pur infecțios.

2. PURIFICAREA VIRUSURILOR ȘI MACROMOLECULELOR BIOLOGICE

Din extractul crud (obținut de ex. prin sonicare sau cu soluție salină hipertonică) este posibilă separarea virusurilor printr-o varietate de metode (combinații de metode) :

a) **Precipitare fracțională** cu (i) *săruri* (ex. : sulfat de amoniu) sau *alți agenți precipitanți* (etanol, metanol, sulfat de protamină) sau *purificare* cu

(ii) *solvenți organici* (di-etil-eter, *n*-butanol, cloroform, fluorocarboni), extractul crud fiind eventual debarasat în prealabil prin ultracentrifugare de componentele particulate și concentrat prin dializă ; dau rezultate variabile în raport de virus și natura extractului crud.

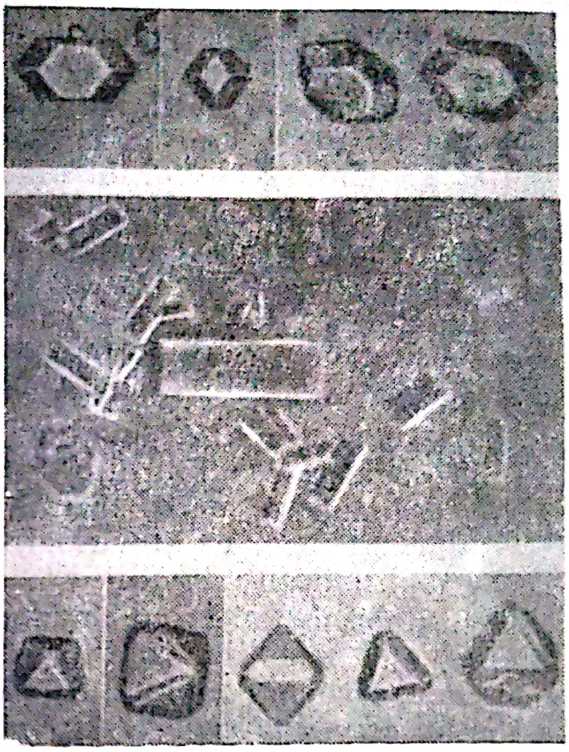


Fig. 152: Cristali de virus Coxsackie A_{10}. *Sus*: rombic dodecaedric; *mijloc*: ortorombic; *jos*: octaedric. (*Steere* și *Schaffer*)

Solubilitatea majorității proteinelor descrește odată cu creșterea concentrației sărurilor foarte solubile cum este de ex. $(NH_4)_2SO_4$; deci, în condiții date de concentrație salină, o specie particulară de proteină poate fi precipitată și prin aceasta separată de alte specii de proteine. Dacă în asemenea condiții de precipitare cu sulfat de amoniu, se ajustează *p*H-ul la punctul izoelectric, proteina respectivă va precipita formînd cristali (în acest mod, Stanley în 1935 precipită cu formare de cristali virusul mozaicului tutunului). Fiind nespecifice, metodele de precipitare a virusurilor animale servesc de obicei ca etape primare în purificarea virusurilor.

b). **Cromatografia de adsorbție, de excludere moleculară sau gel filtrarea** în scopul separării compușilor din amestec pe baza mărimii lor moleculare. Rata de eluție a unei specii moleculare depinde de (i) *coeficientul de repartiție* a substanței între volumele din afara și din interiorul particulelor de gel, (ii) *coeficientul de difuzare în gel* și (iii) *gradul de aviditate* al substanței față de contaminanți și față de matricea gel-polizaharidică.

Adsorbentul (fosfat tricalcic, amidon, rășini, derivați celulozici) este introdus într-un tub vertical din sticlă iar suspensia de virus este trecută prin coloană sub presiune pozitivă.

Separarea virusului (sau a altor macromolecule) de substanțele ne-virale (sau de contaminare) depinde de diferențele în distribuția componentelor între faza solidă adsorbantă și faza apoasă fluidă.

Virusul reținut în coloană, după spălare, este eluat folosindu-se un tampon eluant selectiv (tampon cu *p*H și forță ionică adecvată).

Invers, materiale de contaminare pot rămîne adsorbite în coloană, virusul apărînd în efluent.

Alegerea corectă a porozității gelului (de ex. : diferite tipuri de Sephadex), a dimensiunilor coloanei și a sistemelor tampon pentru eluție face posibilă obținerea unei rezoluții cromatografice bune (disociere eficientă a componentelor).

c) **Cromatografia pe coloană de rășini schimbătoare de ioni** s-a dezvoltat odată cu obținerea rășinilor sintetice (mai ales DEAE * — și CM ** —

---

* DEAE = Dietilaminoetil (celuloză), schimbător anionic.

** CM = Carboximetil (celuloză), schimbător cationic.

celuloza) şi constă în distribuţia în mod diferit a componentelor de separat între o fază staţionară şi una mobilă, ca urmare a stabilirii de legături electrostatice între sarcinile electrice ale macromoleculelor din proba de fracţionat şi cele de semn opus ale grupărilor active ale schimbătorului. Ulterior, eluantul desface aceste legături şi se substituie macromoleculelor pe grupările active ale schimbătorului, liberîndu-le.

Spre deosebire de gelfiltrare în care intervin în special raporturi de dimensiune a particulelor, în cromatografia pe schimbători de ioni intervin raporturi între natura chimică a suprafeţei particulelor.

Metoda este foarte bună pentru separarea de virusuri, rickettsii şi mai ales de proteine permiţînd diferenţierea a două structuri care se deosebesc doar printr-o singură grupare amino.

d) **Cromatografia de afinitate** se bazează pe specificităţile funcţionale ale macromoleculelor sau altor structuri complexe ca de exemplu : anticorpi, antigene (imunosorbenţi), enzime, acizi nucleici, proteine capsidale, receptori, glicoproteine, ca şi virioni, membrane celulare, ribozomi sau chiar celule (ex. limfocite T, B).

Principiul metodei : un component al unei reacţii biochimice reversibile (*ligand*) este imobilizat prin fixare la un suport insolubil (granule de sticlă, polistiren, cărbune, celuloză, Sepharoză) fără alterarea funcţiei, obţinîndu-se astfel un *adsorbant specific* care va extrage, selectiv, dintr-un amestec, numai acel component cu care se combină specific în mod natural : substrat-enzimă ; antigen-anticorp ; hapten-anticorp (legături chimice covalente).

(i) Atunci cînd combinarea specifică se realizează prin legătura de tip antigen-anticorp, antigenul (haptenul) fiind imobilizat pe suport*, adsorbentul este numit *imunoadsorbent* şi foloseşte pentru purificarea anticorpilor specifici.

După spălare cu soluţii tampon adecvate, componenta specifică este liberată prin eluare şi recuperată din efluent în stare purificată.

Adsorbentul specific (faza solidă), după spălare poate fi din nou folosit.

(ii) O aplicaţie a imunosorbenţilor o găsim în *tehnici de radio-imunometrie* (*RIA şi RIP*)** astăzi larg folosite pentru identificarea şi titrarea unor specii moleculare de mare interes biologic, permiţînd dozări de nanograme antigen respectiv anticorp/ml.

Imobilizînd pe un suport solid (mărgea de polistiren) cu suprafaţă cunoscută un anticorp specific (de ex. : anti-HBs), acesta va reţine numai antigenul corespunzător dintr-un amestec în care acesta este solubilizat (în ex. : antigenul hepatitic B de suprafaţă -Ag HBs -din ser sau plasmă umană). Apoi, cu ajutorul unui ser imun anti-HBs marcat cu I^{131} se va măsura cantitatea (în nanograme/ml) de AgHBs reţinută pe suprafaţa imunosorbentului. *Radioimunodozarea* (RIA) după metoda în ,,sandwich" este folosită astăzi ca metodă de rutină pentru titrarea de antigene, hormoni, enzime datorită specificităţii şi sensibilităţii ei foarte mari.

---

* Ca suport solid pentru prepararea de imunoadsorbenţi se foloseşte bromoacetil celuloză, Sepharoză activată cu bromură de cianogen, glutaraldechidă ; pe suport poate fi legat antigen sau anticorp specific, după caz.

** RIP = radioimunoprecipitare (ambii reactanţi sînt în fază fluidă) RIA = *radioimmuno assay* (unul din reactanţi este imobilizat în fază solidă).

(iii) *Cromatografia de afinitate* a permis de asemenea izolarea și purificarea acizilor nucleici monocatenari folosind principiul *hibridizării complementare* prin legături hidrogen a bazelor pereche. Cu mARN viral imobilizat pe suport se poate astfel identifica și stabili cantitatea de acid nucleic viral (genom viral) integrată în genom celular gazdă (*tehnica hibridizării moleculare „RNA/DNA sau „DNA/DNA*).

e) **Hemadsorbția — eluția** constituie o formă specială și specifică de purificare și concentrare a anumitor virusuri hemaglutinante cum sînt Myxovirusurile. Prin intermediul hemaglutininei, virusul se atașează de receptorii hematiilor formînd agregate care sedimentează ușor și pot fi spălate, îndepărtîndu-se materialul străin de contaminare. Ulterior, enzima virală, neuraminidaza, topește receptorul de pe membrana hematiei liberînd virusul.

f) **Centrifugarea** ocupă un loc important în purificarea, concentrarea și caracterizarea virusurilor și macromoleculelor biologice.

Ultracentrifugile preparative posedă rotoare angulare de capacități variind între 100—1000 ml, acționate în camere răcite și vidate, la viteze de rotație creînd cîmpuri centrifugale de 40 000 —120 000 × g accelerație. La peste 100 000 × g sedimentează și cele mai mici virusuri (picornavirus = = g.mol. 6.7×10^6).

(i) Alternînd centrifugări la viteze mici și viteze mari („*centrifugare diferențială*") se pot obține grade de purificare și concentrare satisfăcătoare.

Pornind de la un omogenat tisular care conține virus, o centrifugare la o viteză mică va sedimenta întîi particule mari și fragmente celulare, iar virusul rămîne în lichidul supernatant; din supernatant, printr-o centrifugare la viteze mari într-un rotor cu cupe în unghi fix, de astă dată se va sedimenta virusul și vor rămîne în suspensie particule nevirale cu gr.mol. mai mică decît virusul. Sedimentul, care conține virusul, este reluat într-un mic volum de diluant adecvat, protector.

(ii) *Ultracentrifugarea în gradient de densitate* a permis creșterea considerabilă a puterii de rezoluție a ultracentrifugării. Metoda constă în separarea și stratificarea (zonarea) particulelor dintr-un amestec în ordinea descrescîndă a dimensiunii și densităților prin centrifugarea lor într-o (contra) coloană formată dintr-un gradient de densități pozitive diferite ordonate în ordine crescîndă de la suprafață spre fundul tubului. Pentru construcția gradientului se folosesc de obicei soluții de sucroză, glicerol, clorură de cesiu etc. După depunerea pe gradient a suspensiei conținînd virus, tubul din plastic este introdus într-un *rotor cu cupe basculante* (sau *rotor orizontal*) și acționat la viteză mare.

Particulele de virus (ca și fragmente subcelulare, macromolecule) sedimentează etajat în gradient, după un anumit timp de rotație, sub forma de zone separate la rate care depind de dimensiunea, forma și densitatea particulelor. Există două metode de apreciere, în funcție de (a) *rata (viteza) de sedimentare* a fiecărei componente și în funcție de (b) *etajarea în zone* care se produce, în primul rînd, în *raport de densitățile* lor.

În prima metodă, denumită „centrifugare diferențială în gradient" sau „centrifugare în rată zonală" reperarea zonelor se face prin difracția unui fascicol de lumină; fracțiunile se obțin separat cu ajutorul unui colector de fracțiuni.

În a doua metodă, denumită „centrifugare în echilibru zonal" se continuă ultracentrifugarea (16—24 ore) pînă cînd diferitele clase de particule se stabilizează ca zone distincte la diferite nivele ale gradientului (poziţie izopicnică) în funcţie de propria lor densitate.

Asemenea metode au permis diferenţierea între particule de virus complet infectant şi virus incomplet, neinfectant (capside goale, lipsite de acid nucleic).

(iii) *Comportamentul diferit în ultracentrifugă* permite separarea şi concentrarea unui anumit produs (virusuri, componente subcelulare etc.) dintr-un amestec gradient de volume mari folosind *rotoare zonale* speciale (în care soluţia se introduce în timpul centrifugării la turaţie de 5000 t/min şi fracţiunile separate sînt colectate în timp ce rotorul este în mişcare).

(iv) *Ultracentrifugarea în flux continuu* permite separarea virusului sau altor structuri subcelulare din volume foarte mari de materiale (ex. : lichid de cultură de celule, material de dezintegrare celulară etc.) folosind *rotorul de flux continuu* care permite colectarea printr-un sistem de canale încorporate în rotor.

B. METODE PENTRU IDENTIFICAREA ŞI CARACTERIZAREA VIRUSURILOR ŞI MACROMOLECULELOR VIRALE

Se bazează pe determinarea exprimată cantitativ a caracteristicilor fizico-chimice şi biologice a preparatului final obţinut cum sînt de exemplu : *dimensiuni, formă, greutate moleculară* (măsurate prin microscopie electronică şi ultracentrifugare), *densitate* (prin ultracentrifugare), *potenţial de suprafaţă* (prin mobilitate electroforetică), *arhitectură moleculară* (prin difracţie în radiaţie X ; prin examinare la microscopul electronic după „colorare negativă" (impregnare) cu fosfotungstat de potasiu), *caracteristici antigenice* (prin metode de imunoprecipitare, imunoelectroforeză, fixare de complement), *infectivitate* (teste de numărare a unităţilor infectante, formatoare de plaje (PFU) *) etc.

Metodele actuale permit obţinerea de preparate *înalt purificate* (nu absolut chimic pure), evidenţiind caracteristici omogene la examinarea cu metode avînd o mare putere de rezoluţie.

Cu privire la virioni şi componente virale, caracterizarea fizică şi chimică presupune în primul rînd determinarea dimensiunilor, formei, masei şi sarcinii de suprafaţă urmată de analiza morfologică a virionului, anatomiei structurale şi structurii fine moleculare (categorii de unităţi structurale *morfologice* şi aranjamentul lor) şi de analiza chimică (categorii de unităţi *chimice* moleculare) în special a componentelor proteinică şi acid nucleinică, comune la toate virusurile (vezi tabel 95 şi 96).

---

* Probabil, numai pentru fagul T2 o unitate infectantă formatoare de plajă (PFU) a fost găsită cu raţia 1 adică corespunzînd la 1 virion. Pentru majoritatea virusurilor, 1 PFU corespunde la 50 pînă la cîteva milioane de particule.

Tabelul 96

Caracteristicile acizilor nucleici ale grupelor principale de virusuri animale

Grup	Tip și gr. molec. (× 10^6 daltoni)	Configurația spirelor	Proporția (%) bazelor în acid nucleic					Număr aprox. de gene
			A	T	U	G	C	
Dezoxiribovirusuri	DNA							
Poxvirus[1]	160	DS	31.5	31.5		18	19	400
Herpesvirus[2]	100	DS	14	13		38	35	250
Adenovirus[3]	23	DS	22	21		28	29	60
Papovavirus[4]	3.5	DS, C	26	26		24	24	10
Parvovirus	1.8	SS	25	35.5		18	21.5	7
Ribovirusuri	RNA							
Orthomyxovirus[5]	4	SS	22—25		30—33	18—20	24—25	15
Paramyxovirus[6]	7.5	SS	24		30	22	24	35
Rhabdovirus[7]	4	SS	27		31	20	22	25
Togavirus[8]	4	SS	29.6		19.7	25.8	24.9	15
Reovirus	15	DS	28		28	22	22	40
Picornavirus[9]	2.6	SS	29		25	24	22	14
Oncornavirus[10]	10	SS	22.1		22.4	28.3	24.2	50
Coronavirus	9	SS	?		?	?	?	?

DS = dublu spiral. SS = monospiral. C = circular. A = adenină. T = thimină. U = uracil. G = guanidină, C = citozină.

[1] virus vaccinia. [2] virus herpes simplex. [3] adenovirus tip 3. [4] virus plyoma. [5] virus gripal tip A. [6] virus paragripal tip I. [7] virusul stomatitei vesiculare. [8] virus Sindbis. [9] poliovirus (toate trei tipurile). [10] virusul sarcomului Rous.

Dimensiunea și forma virusurilor sînt caracteristici care, într-o măsură, variază în raport cu metoda folosită pentru determinare, la care se adaugă faptul că practic nu se pot obține suspensii absolut omogene și pure de virus.

Metodele principale de caracterizare utilizate în studiul virusurilor se pot clasifica, arbitrar, în trei categorii : hidrodinamice, optice și imunologice.

1. METODE HIDRODINAMICE

Înainte de dezvoltarea ultracentrifugii și a microscopului electronic, dimensiunea și masa particulelor erau estimate indirect prin determinarea mișcării acestora în suspensie apoasă. Datorită agitației termice rezultă deplasarea lentă a particulelor din regiuni cu concentrații mai mari spre regiuni învecinate cu concentrații mai scăzute (*difuzie*). Dacă peste un strat conținînd virus se depune un strat de solvent și, din timp în timp, la distanțe cunoscute față de planul de separare, se determină concentrația de virus, din datele obținute, completate cu temperatura și viscozitatea mediului de suspensie, se poate calcula raza unei particule de virus sferic.

a). **Măsurarea vitezei de sedimentare a particulelor în ultracentrifugă** permite aprecierea dimensiunilor, formei și masei aflate în suspensia apoasă. Prin accelerarea sedimentării particulelor în cîmpul centrifugal, la un moment dat, se atinge un punct unde forța fricțională opusă de mediul de suspensie se echilibrează cu forța centrifugală : din acest punct (moment) particulele sedimentează cu viteză uniformă. Particulele în sedimentare formează un front (*boundary*) care se deplasează, de aceea viteza acestora poate fi determinată prin măsurarea ratei de deplasare a acestui strat folosind metode optice de observare (difracţia unui fascicul de lumină).

Pentru particule sferice, viteza de sedimentare (v) este determinată de raza (r) şi densitatea (d) particulei, de densitatea (d_0) şi viscozitatea (η) mediului şi de forţa centrifugală (Fc) care depinde de viteza de rotaţie şi de distanţa particulei faţă de axul de rotaţie (raza rotorului). Această relaţie este cunoscută sub numele de legea lui Stockes.

Pentru virusurile care nu sînt sferice, metoda permite încă determinarea masei.

Producerea a multiple straturi indică prezenţa unui număr echivalent de componente diferite a căror cantitate relativă poate fi măsurată prin metode optice (spectrofotometrice).

b). **Electroforeza** constă în măsurarea vitezei de migrare a virusului sau macromoleculelor în cîmp electric.

Viteza cu care se deplasează particulele depinde de diferenţa de potenţial impusă suspensiei şi de încărcarea electrică netă pe suprafaţa particulei. Aceasta din urmă depinde de gradul de disociere al grupărilor bazice şi acide pe particulă, fapt controlat de pH-ul şi forţa ionică a mediului de suspensie.

Mobilitatea electroforetică este viteza de deplasare a particulei pe unitate de gradient de potenţial şi este caracteristică pentru o suspensie dată de virus purificat în condiţii bine definite de *p*H şi concentraţie salină.

(i) *Electroforeza liberă-Tiselius* furnizează informaţii despre numărul de componente prezente în suspensie (determinate optic prin măsurarea indicelui de refracţie) însă nu permite izolarea zonelor separate datorită fenomenului de convecţie.

(ii) *Electroforeza de zonă* remediază acest neajuns prin aceea că se foloseşte un suport solid inert (hîrtie, gel de agar, amidon, acetat de celuloză poliacrilamidă, silicagel, alumină, sephadex etc.) în care migrează ionii sau particulele cu încărcare electrică, constituind tot atîtea zone separate cîte componente cu mobilităţi electroforetice diferite existau în suspensie.

Deşi nu furnizează date despre forma, dimensiunile şi masa particulelor, electroforeza exprimă corect gradul de purificare (omogenitate) al unui preparat viral.

Este mult folosită pentru separarea electroforetică a proteinelor, aminoacizilor, zaharurilor, nucleotidelor şi derivaţilor lor.

Zonele se evidenţiază prin metode de fixare şi colorare care variază în raport de specia moleculară observată (proteine, lipoproteine, glicoproteine, nucleotide etc.) şi de suportul inert folosit (hîrtie, agar, amidon etc.).

— Electroforeza în gel de poliacrilamidă (PAGE) are o largă întrebuinţare pentru că oferă o înaltă putere de rezoluţie, sensibilitate, versatilitate şi reproductibilitate.

— Electroforeza discontinuă în gel de poliacrilamidă presupune un sistem discontinuu de tampoane şi un gel discontinuu în ceea ce priveşte porozitatea * format dintr-un strat inferior unde are loc separarea propriu-zisă, un strat mijlociu cu porozitate mare în care se concentrează proba care este încorporată în stratul superior. Stratificarea discontinuă permite concentrarea produsului de analizat din probe diluate, obţinerea unei zone de plecare ultrafine, condiţii de stabilizare („*steady state*") a stării de separare ceea ce se pretează la aplicarea la volume mari de probe (PAGE preparativă).

---

* Un înalt grad de reproductibilitate a dimensiunii porilor se obţine prin simpla ajustare a concentraţiei de acrilamidă şi de agent liant.

— Electroforeza bidimensională.

Separarea zonală electroforetică se poate combina, într-o a doua etapă, cu cromatografia sau a doua electroforeză executată pe cealaltă dimensiune (la 90°) obţinîndu-se astfel „*hărţi peptidice*"* care furnizează informaţii preţioase despre structura calitativă şi cantitativă a proteinelor.

Electroforeza zonală în poliacrilamidă a furnizat date pentru dezvoltarea unei teorii despre mişcarea moleculelor în geluri şi, pe baza unui program computerizat, a generat 4000 sisteme tampon discontinuu operînd între *p*H 3 şi *p*H 11 (log mobilităţii electroforetice contra concentraţia gelului furnizează, via computer, informaţii despre greutatea moleculară, mobilitatea liberă şi valenţa moleculei proteice).

(iii) *Separarea macromoleculelor în cîmp electric cu ajutorul amfoliţilor* **

— Amfoliţii sînt acizi alifatici poliamino-carboxilici sintetici cu greutate moleculară mică (300—600) avînd puncte isoelectrice (pI) foarte diferite între *p*H 3.0—11.0 graţie cărora formează, în cîmpul electric, un gradient natural de *p*H. Macromoleculele din proba de testat, sub acţiunea cîmpului electric, sînt localizate (focalizate) în zona din gradient cu pI corespunzător.

Metoda poartă numele de focalizare izoelectrică sau electrofocuzare şi permite într-o singură experienţă, cu mare acurateţe şi reproductibilitate, separarea şi determinarea pI a macromoleculelor de mare greutate moleculară.

Amfoliţii sînt îndepărtaţi uşor prin dializă de fracţiunile proteice focalizate.

Pentru anularea curenţilor de convecţie şi stabilizarea zonelor focalizate se utilizează coloane cu gradienţi de densitate de sucroză conţinînd amfoliţi.

— Izotachoforeza este migrarea ionilor macromoleculelor cu viteză egală şi constantă într-un cîmp electric obţinîndu-se rezoluţii cel puţin la fel de bune ca în focalizarea izoelectrică. Drept spaţiatori („spacers") între proteine cu pI apropiat se folosesc amfoliţii cu *p*H adecvat.

Se pretează excelent la separare preparativă de mari cantităţi de proteine.

c). **Cromatografia în fază gazoasă** este acea formă specială de cromatografie în care faza în mişcare este gazoasă iar faza staţionară este un suport solid activ (G.S.C.) sau lichid distribuit pe suport solid (G.L.C.) ***.

Proba de analizat este vaporizată, preluată în faza gazoasă de gazul purtător şi trecută prin coloana cromatografică unde are loc absorbţia succesivă şi reversibilă a componentelor probei şi partiţia componentelor probei între cele două faze.

---

* Metoda curentă pentru obţinerea „hărţilor peptidice" din digerate proteolitice este *cromatografia bidimensională* în strat subţire folosind ca suport celuloză microcristalină care permite decelarea a 10^{-10} moli din fiecare aminoacid.

** *„Ampholine Carrier Ampholytes"* este denumirea comercială a amfoliţilor construiţi pentru domenii determinate de *p*H între 3—11 capabili să furnizeze „spaţii" între două proteine care diferă printr-o singură grupare amino.

*** G.S.C. = Gas solid chromatography. G.L.C. = Gas liquid chromatography.

Componentele, disociate și într-o anumită succesiune, trec prin detector care emite semnale dependent de natura componentelor. Semnalele sînt amplificate și înregistrate (cromatogramă), indicînd fidel compoziția calitativă și cantitativă a probei.

Gaz-cromatografia permite a se analiza aminoacizi, glucide, acizi grași hormoni etc., ca și prezența de virus în produse biologice (ex. virusul hepatitei contagioase a cîinelui în sînge).

2. METODE OPTICE

Metodele moderne de microscopie electronică furnizează date precise despre formă, dimensiuni și structura fină (anatomia structurală) a particulelor virale și componentelor lor.

a) **Microscopia electronică.** *Microscopul optic* obișnuit folosește radiație vizibilă cu lungime de undă între 400—800 nm și focalizarea imaginii printr-un sistem de lentile, și, în cele mai bune condiții, permite diferențierea particulelor cu diametru de 200 nm. Majoritatea virusurilor au însă diametrul sub această limită.

Microscopul electronic, spre deosebire de cel optic (fig. 153) folosește drept sursă un fascicol de electroni * iar reglarea imaginii se obține trecînd fasciculul printr-un cîmp magnetic reglabil care operează în vid (lentile electromagnetice), imaginea fiind captată pe un ecran fluorescent sau placă fotografică.

Lungimea de undă este extrem de scurtă, aproximativ 0.4 nm, ceea ce face posibilă diferențierea a două particule separate prin distanțe de 1,5 nm.

Pentru a putea fi observate, materialele biologice trebuie „colorate" (contrastate) înainte de examinare la microscopul electronic.

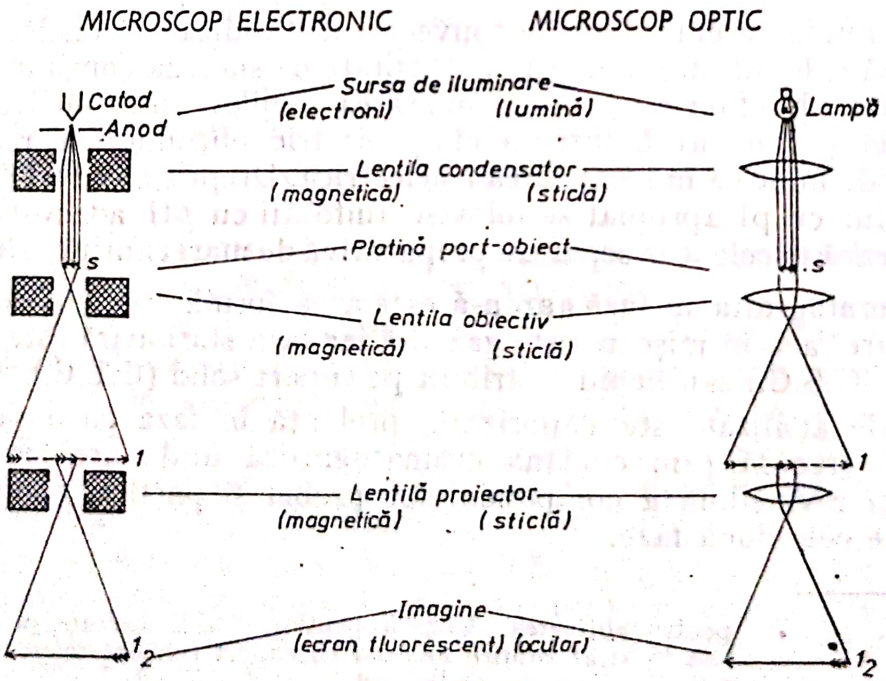

MICROSCOP ELECTRONIC
MICROSCOP OPTIC
Catod
Anod
Sursa de iluminare
(electroni)
(lumină)
Lampă
Lentila condensator
(magnetică)
(sticlă)
Platină port-obiect
s
s
Lentila obiectiv
(magnetică)
(sticlă)
1
1
Lentilă proiector
(magnetică)
(sticlă)
Imagine
(ecran fluorescent) (ocular)
1_2
1_2

Fig. 153: Principiul microscopului electronic (*Wolf, B.*).

---

* emis de un filament incandescent, accelerat într-o diferență de potențial de 50—100 kilovolți.

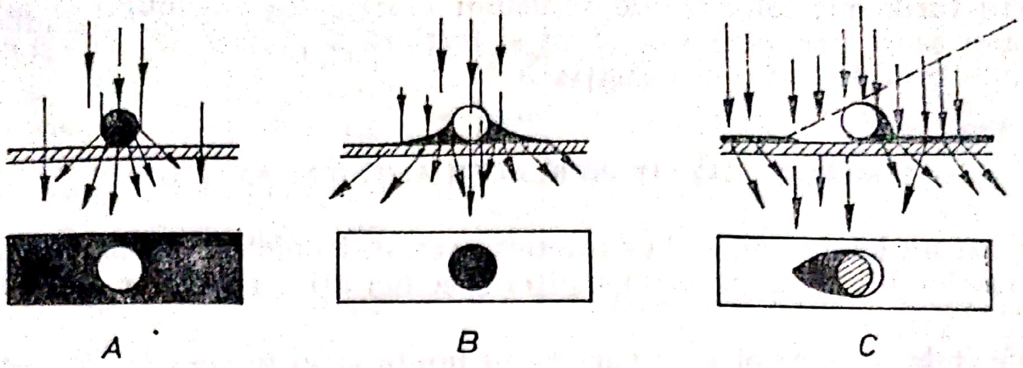


Fig. 154 : Metode de contrastare a virusurilor pentru examen electronomicroscopic:

A : Difracţia electronilor de către un virion colorat pozitiv. *B* : Situaţia este inversată după coloraţia negativă. *C* : Difracţia electronilor în preparatul „metalizat" : „umbrele" depind de dimensiunea, forma şi poziţia virionului. (*Horne, R.W.* şi *Wildy, P.*)

Contrastarea (opacifierea) se obţine prin următoarele metode:

(i) *„umbrirea" sau „metalizarea" particulelor* (procedeu prin care vapori de metal greu (platină, uraniu etc.) sînt proiectaţi oblic asupra particulelor de examinat creînd „umbre" care dau informaţii despre forma, eventual şi dimensiunea particulelor (fig. 154, C);

(ii) *metoda mulajelor (replicilor) negative*; mulajele sînt confecţionate din monoxid de silicon sau carbon pe preparate virale crude sau congelate şi care sînt ulterior îndepărtate prin solvire; mulajul se examinează ca atare sau după uşoară „umbrire" pentru a se evidenţia detalii de structură a suprafeţei virionilor, componentelor virale, cristalilor de virus (fig. 200);

(iii) *„colorarea pozitivă" prin impregnare* cu metale grele * (fig. 154, A) oferă puţine date corecte despre morfologia virusurilor datorită deformărilor suferite prin uscare şi deshidratare;

(iv) *„colorarea negativă"* prin incorporarea suspensiei purificată de virus într-o soluţie neutră de fosfotungstat de potasiu care îmbibă particula şi formează o „oglindă" contrastantă în jurul structurilor virale (fig. 154, B) fără deformarea structurilor. Este cea mai folosită şi fructuoasă metodă în furnizarea de date despre structura internă şi de suprafaţă a particulelor.

Pe baza celor de mai sus şi prin combinare cu ultracentrifugare au fost elaborate metode de *microscopie electronică cantitativă* care permit de exemplu numărarea particulelor virale prezente într-o unitate infectantă (PFU) de virus.

b) **Difracţia în radiaţii X**. Necesită preparate extrem de pure de virus sau macromolecule, în grad cristalizabil, pentru a furniza în schimb date importante despre structura cristalină a virionilor şi componentelor sale.

Expus unui fascicul monocromatic de radiaţii X, aranjamentul atomilor din planurile structurale ale cristalului determină difracţia radiaţiei şi se produc imagini geometrice uniforme caracteristice.

---

* Tetraoxid de osmiu (fixativ), acid fosfotungstic, permanganat de potasiu, acetat de uranil, hidroxid de plumb.

Structurile morfologice ale virusului mozaicului tutunului şi a poliovirusului ca şi structura secundară şi terţiară a proteinelor virale au fost elucidate prin difracţie în radiaţia X *.

3. METODE BAZATE PE REACŢII ANTIGEN- ANTICORP

Ocupă un loc însemnat în caracterizarea antigenică şi evaluarea purităţii preparatelor biologice datorită înaltei specificităţi a reacţiilor antigen-anticorp.

Diferitele teste serologice variază în limite largi în ceea ce priveşte sensibilitatea (vezi tabel 97), fapt de care trebuie ţinut seama.

Imunoprecipitarea, în funcţie de calitatea reactivilor şi de testul efectuat, furnizează date despre numărul de componente antigenice într-un amestec, permite identificarea şi dozarea antigenelor şi evidenţierea unor caracteristici fizice (mărime, gr. moleculară) a acestora.

Se folosesc îndeosebi trei grupe de metode : precipitarea antigen-anticorp în gel, imunoelectroforeza şi precipitarea antigenului cu anticorpi marcaţi (cu fluorocromi, feritină, radionuclide sau enzime).

a) **Precipitarea antigen-anticorp (imunoprecipitarea) în mediu gelificat.** Are avantajul faţă de precipitarea în mediu lichid că *localizează* precipitatul în gel în zona de echivalenţă (acolo unde se realizează o neutralizare completă a situsurilor antigenice cu situsurile anticorp) **.

Există o varietate de tehnici (vezi fig. 155—164).

(i) *Difuzia simplă liniară (într-o singură dimensiune*). De exemplu tehnica în tub a lui Oudin (1964), în care anticorpul (sau antigenul) este încorporat în gel, iar antigenul (sau anticorpul) difuzează din exterior. Metoda permite stabilirea numărului de antigene, concentraţia acestora în amestec, greutatea moleculară.

(ii) *Difuzia simplă radială* (*în două dimensiuni*) în care gelul conţinînd serul este turnat pe o placă şi în orificii practicate în gel se depune antigenul.

Tabelul 97

Sensibilitatea unor metode de măsurare a reacţiilor antigen-anticorp

Metoda	Sensibilitate (µg Azot-anticorp/ml)
Precipitare cantitativă	4—10
Difuzia simplă în gel	5—10
Aglutinarea bacteriană	0.01
Hemaglutinarea pasivă	0.003—0.006
Hemoliza	0.001—0.03
Fixarea complementului	0.1
Neutralizarea toxinei	0.01
Radioimunodozarea	<0.001

---

* Microscopia electronică furnizează date despre forma şi numărul *unităţilor structurale morfologice* (capsomere, peplomere, nucleoproteine tubulare helicale, tipuri de simetrie structurală etc.) din componenţa virionului. Studiul *unităţilor chimice* care compun aceste structuri morfologice (proteine, polipeptide, amino-acizi şi secvenţa lor, structura în baze a acizilor nucleici) este de domeniul metodelor chimiei analitice.

** *Poziţia* în care se formează banda de precipitare depinde de şase factori : 1) concentraţia de antigen, 2) coeficientul de difuzie a antigenului, 3) concentraţia anticorpilor, 4) timp, 5) temperatură şi 6) concentraţia sau densitatea gelului. Dacă ultimii patru factori sînt menţinuţi constanţi, linia de precipitare se va deplasa într-o poziţie dictată de concentraţia antigenului. *Numărul* liniilor de precipitare depinde de numărul cuplurilor antigen-anticorp care se formează în gel.

Tehnica haloului sau imunodifuzia monoradială (SRID) (Mancini, 1964) permit determinări *cantitative* în funcție de diametrul inelului zonei de precipitare care este în raport direct cu concentrația de antigen *.

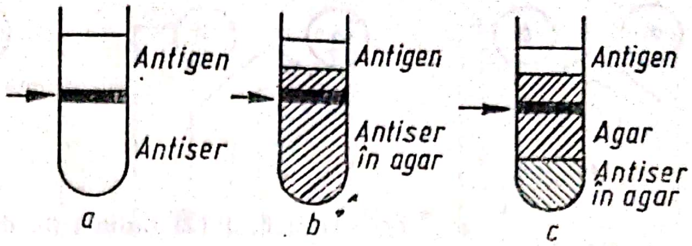


Fig. 155 : Teste calitative de imunoprecipitare:
a : Precipitarea în mediu lichid („în inel") : soluția de antigen este depusă cu atenție peste anticorp ; în cazul unei reacții pozitive, la zona de contact se formează un disc alb de precipitat.
b : Difuzia simplă liniară (într-o singură dimensiune) (Oudin, 1964) : soluția de antigen se depune pe o coloană de anticorp inclus în agar ; săgeata indică locul unde s-a format precipitatul (zona de echivalență).
c : Difuzia dublă liniară (într-o singură dimensiune) (Oakley și Fulthrope, 1953) : atît anticorpul cît și antigenul difuzează unul spre altul în coloana de agar formînd precipitatul la zona de echivalență. (*Humphrey, J.H.*, și *White, R.C.*)

(iii) *Difuzia dublă liniară (într-o singură dimensiune)*. Tehnica în tub (Oakley și Fulthrope, 1953) presupune deplasarea din afară în gel atît a antigenului, cît și, din sens opus, a anticorpilor. Se formează astfel un dublu gradient de concentrații, antigen și respectiv anticorpi, care se întrepătrund, la zona de echivalență formîndu-se o linie de precipitare.

Zona de precipitare ocupă o poziție în funcție atît de satisfacerea echivalenței cît și de raportul între coeficienții de difuzie ai celor doi reactanți. Cunoscînd caracteristicile serului imun, se pot deduce numărul, concentrația și caracteristicile antigenului.

(iv) *Difuzia dublă radială (în două dimensiuni)*. Tehnica în placă Ouchterlony (1948), în care reactanții difuzează unul spre altul în grosimea stratului de agar pornind din bazine dreptunghiulare sau circulare : se formează

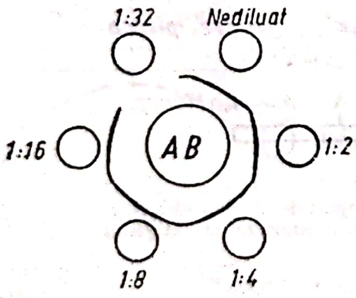


Fig. 156 : Titrarea unei soluții de antigen prin difuzie dublă radială (în două dimensiuni).
În rezervorul central se află serul imun AB (Titrul antigenului. 1 : 16)

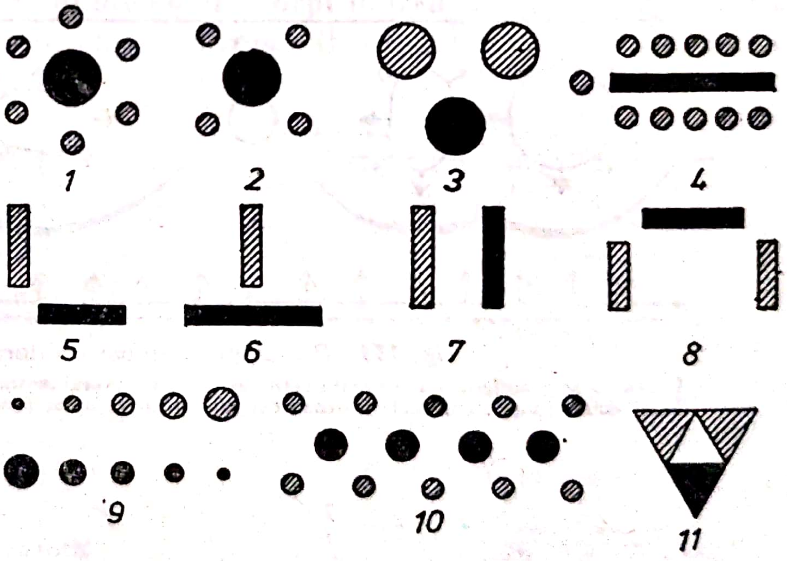


Fig. 157 : Difuzia dublă radială (în două dimensiuni).
Posibilități variate de amplasare a rezervoarelor pentru soluția de antigen (hașurat) și antiser (negru).

---

* Tehnica haloului găsește o aplicație utilă în metoda *imunohemolizei radiale* (*IHR*) : antigenul adsorbit pe hematii și complement se incorporează în gel, iar anticorpul difuzează excentric din godeu. Diametrul ariei de hemoliză determinată de complement (care este activat ca urmare a cuplării anticorpului cu antigenul fixat pe hematii) este proporțional cu concentrația anticorpilor. Prezența inhibitorilor nespecifici nu modifică specificitatea reacției. De aceea, IHR este denumită și *reacția de fixare monoradială* sau *reacția de hemoliză pasivă*.

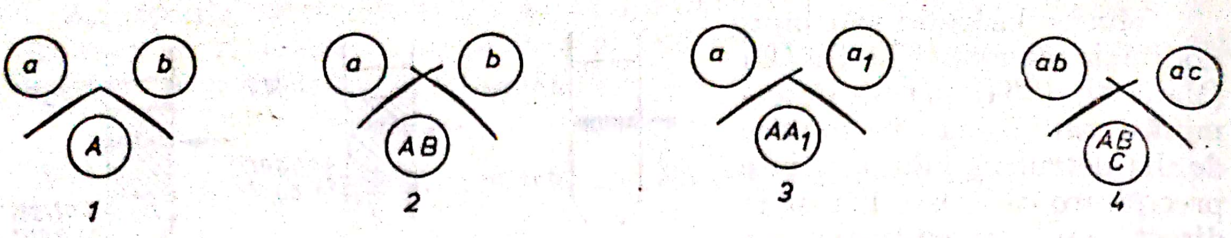


Fig. 158 : Difuzia dublă radială (în două dimensiuni).

Atît anticorpul (A, B, C) cît și antigenul (a, b, ...) difuzează în agar formînd linii de precipitare.
1 : Reacție de identitate: cele două linii se unesc perfect în zona de intîlnire.
2 : Lipsă de identitate între antigenele *a* și *b* : cele două linii se întretaie.
3 : Reacție de parțială identitate unilaterală („Spur") : linia de precipitare cu serul AA_1 și antigenul omolog *a* conține un component care dă o reacție de identitate și cu antigenul heterolog a_1 și încă un component diferit.
4 : Reacție de parțială identitate bilaterală : cele două antigene testate posedă un component identic (*a*) și cîte un component diferit (*b* și respectiv, *c*).

benzi de precipitare care prin numărul, poziția, forma și raporturile care se stabilesc între ele dau informații de o mare acuratețe despre componența antigenică a preparatului și relații de identitate, lipsă de identitate sau de parțială identitate între antigenele testate comparativ (vezi fig. 158).

b). **Imunoelectroforeza** (Grabar și Williams, 1953). Asociază electroforeza cu o variantă de imunoprecipitare monoradială : într-un strat subțire de geloză sau agaroză se dispersează prin electroforeză preparatul de examinat ; în al doilea timp, dintr-un șanț lateral difuzează serul imun corespunzător care va forma linii (arcuri) de precipitare la zonele de echivalență cu fiecare din antigenele dispersate electroforetic (fig. 159).

Metoda permite separarea, identificarea și caracterizarea componentelor unui amestec de cîteva zeci de antigene.

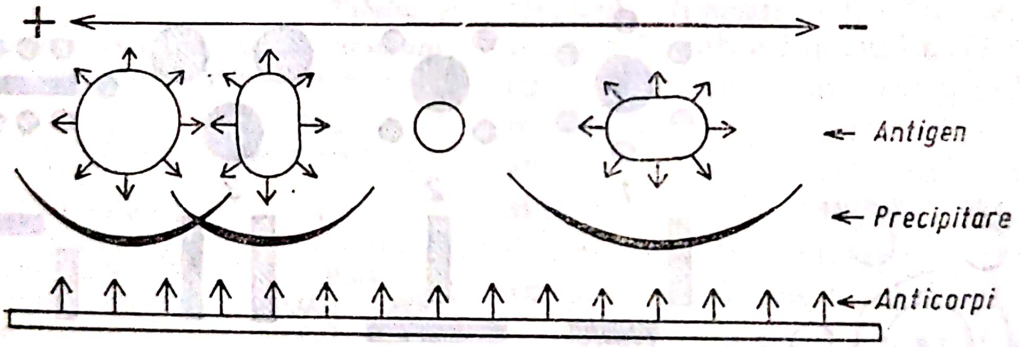


Fig. 159 : Principiul imunoelectroforezei.

În primul timp, antigenele au difuzat electroforetic din rezervorul central în raport de sarcina electrică. În al doilea timp, anticorpul difuzează din șanțul lateral formînd linii de precipitare cu antigenul omolog.

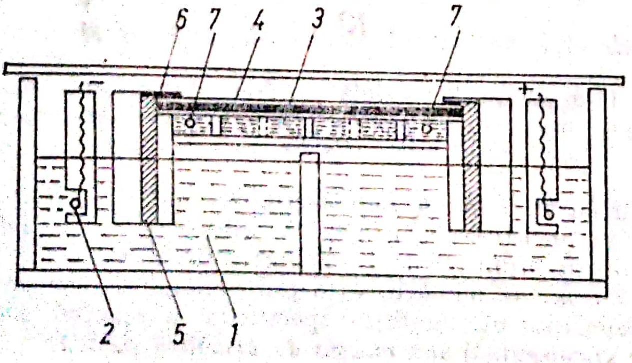


Fig. 160 : Secțiune printr-o cameră de electroforeză.

1 : rezervor pentru soluția tampon ; *2* : electrod din platină ; *3* : sistem de răcire ; *4* : stratul de agar depus pe o placă din sticlă ; *5* și *6* : punte și benzi de legătură din gel de agaroză ; *7* : conductă pentru apa de răcire.

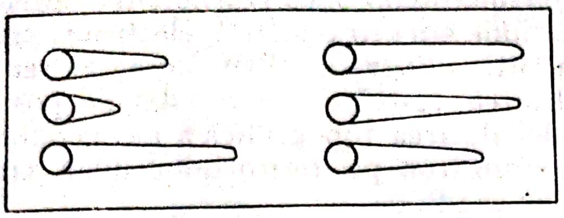


Fig. 161: Imunoelectroforeză, tehnica „rachetei" a lui Laurell.

Antigenul este dispersat electroforetic în gelul conținînd ser imun: se formează o linie de precipitare în formă de „rachetă" a cărei lungime este proporțională cu concentrația antigenului în probă.

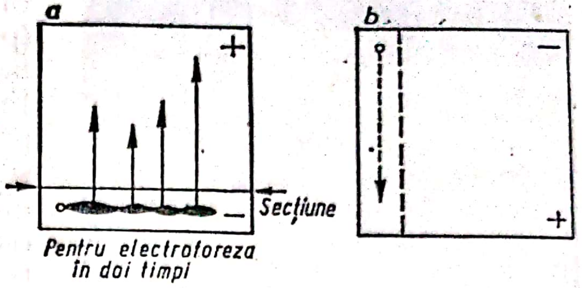

a
+
–
Secțiune
Pentru electroforeza în doi timpi
b
–
+

Fig. 162: Imunoelectroforeza bidimensională.

a: În primul timp se dispersează (disociază) electroforetic antigenul în gel, apoi se detașează porțiunea conținînd antigenele (după linia punctată) care este alipită la un nou gel conținînd serul imun.
b: În al doilea timp, componentele antigenice sînt redispersate electroforetic și formează linii de precipitare cu anticorpul omolog.

Modelul inițial a fost dezvoltat în numeroase variante tehnice în care fie unul din termeni este supus migrării electroforetice contra celălalt termen care este încorporat în gel, fie ambii termeni sînt mobilizați electroforetic în direcții opuse în funcție de sarcina electrică. (Ex.: tehnica „rachetei" Laurell, imunoelectroforeza contracurent, imunoelectroforeza bidimensională etc.).

Atunci cînd antigenul este marcat radioactiv (ex.: proteine care prin biosinteză au încorporat aminoacizi marcați cu carbon radioactiv) lectura se face prin autoradiografie ceea ce mărește sensibilitatea tehnicii.

c) **Tehnici de imunoprecipitare cu anticorpi marcați.** Anticorpii specifici pot fi marcați prin conjugare cu *fluorocromi* (isothiocianat de fluoresceină,

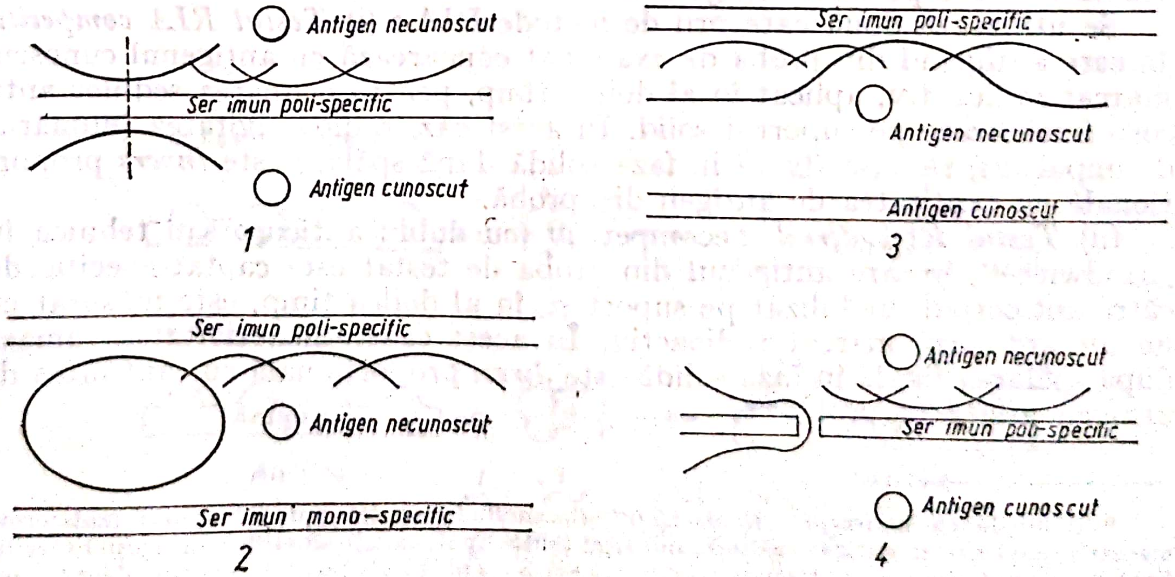

Antigen necunoscut
Ser imun poli-specific
Antigen cunoscut
1
Ser imun poli-specific
Antigen necunoscut
Antigen cunoscut
3
Ser imun poli-specific
Antigen necunoscut
Ser imun mono-specific
2
Antigen necunoscut
Ser imun poli-specific
Antigen cunoscut
4

Fig. 163: Exemple de utilizare a imunoelectroforezei pentru identificarea antigenelor dintr-o soluție necunoscută prin compararea liniilor de precipitare obținute cu:

1: un antigen martor cunoscut, *2*: ser imun monospecific, *3*: după varianta Ossermann cu antigen cunoscut difuzind din șanțul opus sau *4*: după varianta Heremans (tehnica „șanțului întrerupt") care, față de *1*, furnizează în plus relații despre identitatea antigenelor.

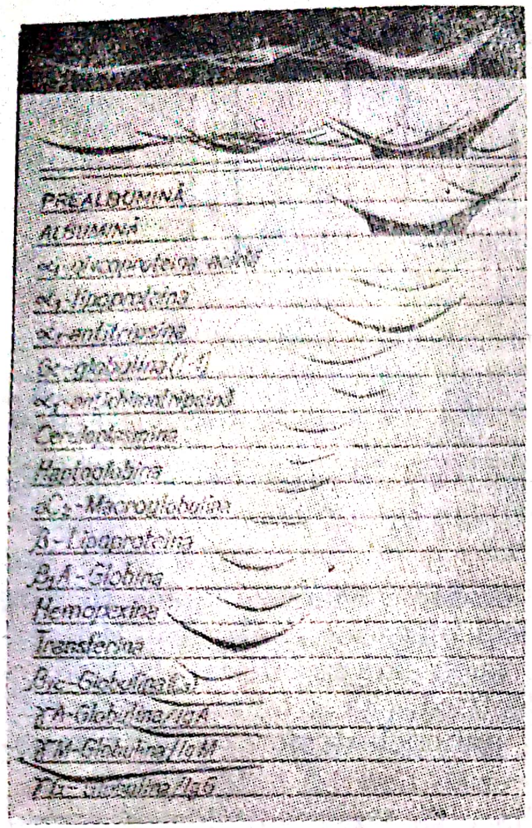


Fig. 164: Imunoelectroforeza serului uman. Poziția, forma și intensitatea liniilor de precipitare date de principalele componente proteinice.

rhodamină) *, cu *ferritină*, cu *enzime* (peroxidază), cu *radionuclide*. Lectura se face la microscop optic obișnuit (cu radiații vizibile sau ultraviolete), electronic sau prin autoradiografie. Prin aceasta, sensibilitatea testelor crește și devine posibilă localizarea topografică a antigenului corespunzător pe teritoriul celular sau tisular gazdă.

d) **Imunoelectronomicroscopia** permite localizarea ultrastructurală și distribuția antigenelor pe țesuturi sau celule folosind tehnici variate bazate pe folosirea anticorpilor marcați cu ferritină, peroxidază, hemocyanină, radionuclide.

Virionii prezenți într-un produs (ex: virus hepatitic tip A prezent într-un extract de materii fecale) prin adaos de anticorp specific formează agregate omogene care, după fixare și „colorare negativă" pot fi identificați la microscopul electronic (vezi cap.L).

e) **Radioimunodozarea** RIA reprezintă determinarea cantitativă a macromolecule antigenice (proteine virale, capsidale, enzime, hormoni, receptori, mediatori imunologici, farmacodinamici etc.) prezente într-un amestec cu alte componente antigenice.

Se utilizează două categorii de metode RIA: (i) *Testul RIA competitiv* în care antigenul din proba de examinat concurează cu antigenul cunoscut marcat radioactiv, aplicat în al doilea timp, pentru ocuparea sediilor anticorp imobilizate pe suportul solid. În acest caz, radioactivitatea (numărul de impulsuri) rămasă fixată în faza solidă după spălare este *invers* proporțională cu cantitatea de antigen din probă.

(ii) *Testul RIA direct*, necompetitiv (cu dublu anticorp sau tehnica în „sandwich)", în care antigenul din proba de testat este captat specific de către anticorpul imobilizat pe suport și, în al doilea timp, este măsurat cu un alt anticorp, marcat radioactiv. În acest caz radioactivitatea rămasă după spălarea finală în faza solidă este *direct* proporțională cu cantitatea de antigen aflată în probă **.

---

[*] Tehnicile cu *anticorpi „fluorescenți"* (imunofluorescența) pot fi: *directă* (anticorpul marcat se cuplează cu antigen tisular); *indirectă* (anticorpul marcat identifică anticorpul specific fixat în primul timp pe antigenul tisular); *tehnica „sandwich"* (folosită pentru identificarea anticorpilor în secțiuni de țesut: se adaugă antigenul care este cuplat de anticorpii tisulari, apoi se identifică antigenul cu anticorp marcat fluorescent); *tehnica identificării complementului fixat* de complexul antigen-anticorp cu un ser anti-complement marcat.

[**] Există un sistem RIA complet automatizat („Gammaflow") pentru dozarea digoxinei, AMP ciclic, CMP ciclic, insulinei, angiotensinei I și tiroxinei.

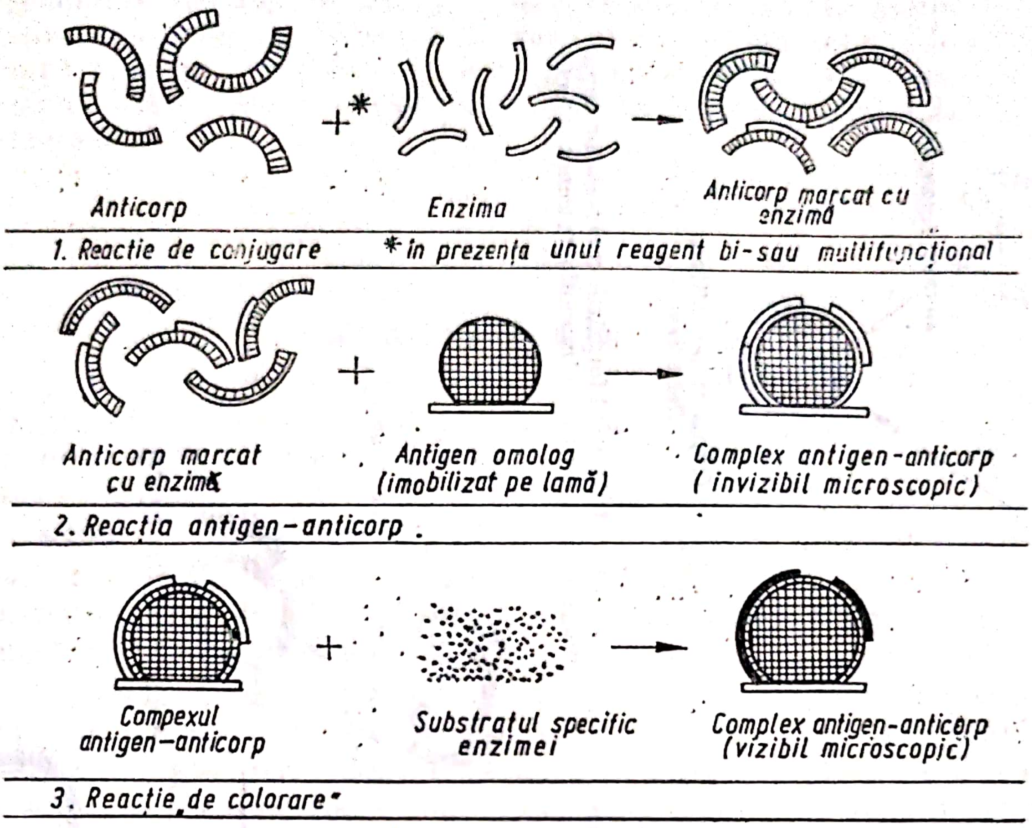

Anticorp
+*
Enzima
Anticorp marcat cu enzimă
1. Reacție de conjugare
* în prezența unui reagent bi-sau multifuncțional
Anticorp marcat cu enzimă
+
Antigen omolog (imobilizat pe lamă)
Complex antigen-anticorp (invizibil microscopic)
2. Reacția antigen-anticorp
Compexul antigen-anticorp
+
Substratul specific enzimei
Complex antigen-anticorp (vizibil microscopic)
3. Reacție de colorare

Fig. 165: Principiul identificării antigenului imobilizat pe suport cu anticorp marcat cu enzimă.

1: Cuplarea anticorpului cu enzimă (ex.: peroxidază). *2*: Atașarea anticorpului marcat la antigen. *3*: Evidențierea complexului antigen-anticorp format cu ajutorul reacției de culoare obținută prin adaosul substratului specific enzimei (ex.: benzidină).

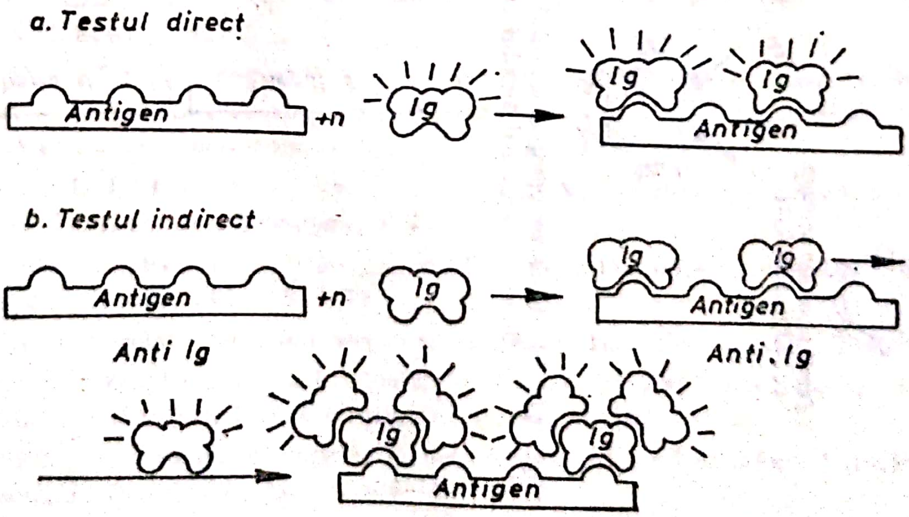

a. Testul direct
Antigen
+n
Ig
Ig
Ig
Antigen
b. Testul indirect
Antigen
+n
Ig
Ig
Ig
Antigen
Anti Ig
Anti Ig
Ig
Ig
Antigen

Fig. 166: Identificarea directă (*a*) sau indirectă (*b*) a antigenului imobilizat pe suport cu anticorp (Ig) marcat (cu fluorocrom, radioiod, enzimă).

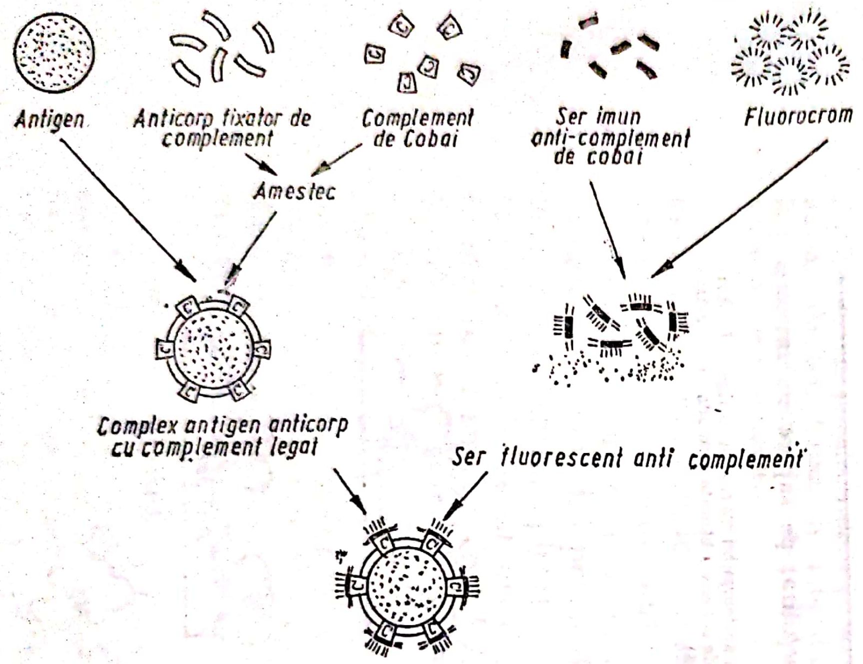

Antigen
Anticorp fixator de complement
Complement de Cobai
Ser imun anti-complement de cobai
Fluorocrom
Amestec
Complex antigen anticorp cu complement legat
Ser fluorescent anti complement

Fig. 167 : Identificarea complementului fixat în complexe antigen-anticorp cu ajutorul serului specific fluorescent.

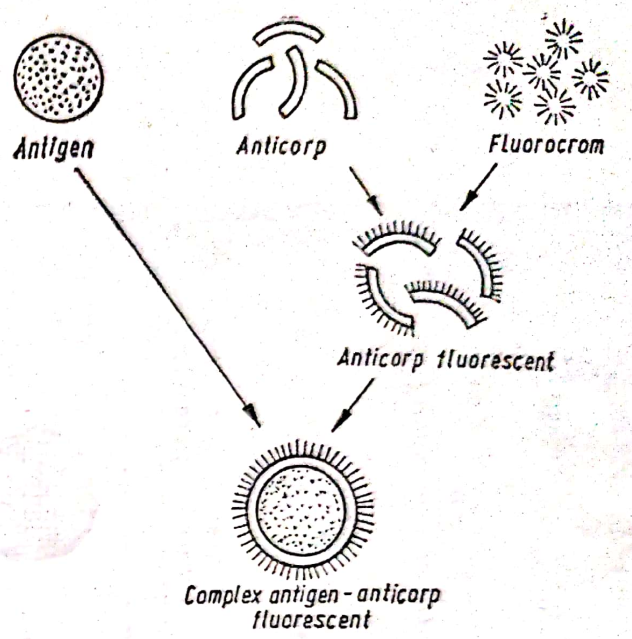

Antigen
Anticorp
Fluorocrom
Anticorp fluorescent
Complex antigen-anticorp fluorescent

Fig. 168 : Principiul formării complexelor imune fluorescente (reacţia de imunofluorescenţă directă).

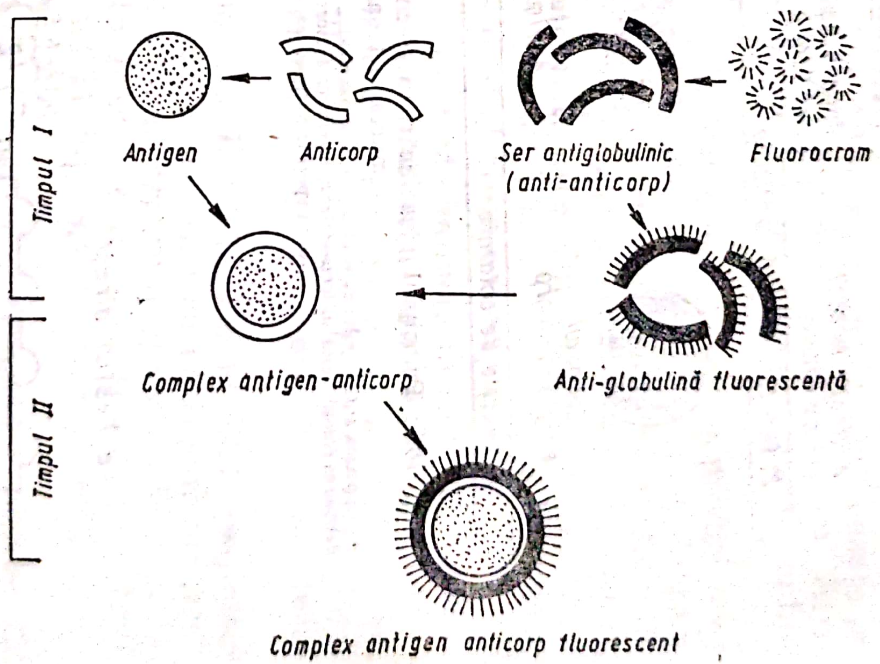

Timpul I
Timpul II
Antigen
Anticorp
Ser antiglobulinic (anti-anticorp)
Fluorocrom
Complex antigen-anticorp
Anti-globulină fluorescentă
Complex antigen anticorp fluorescent

Fig. 169 : Principiul reacţiei de imunofluorescenţă indirectă.

f) **Radioimunoprecipitarea** (RIP) este testarea radioimunometrică în care se folosește anticorp (IgG) marcat care se adaugă la o soluție de antigen. Se adaugă apoi un imunosorbent solid pentru a separa anticorpul nelegat la antigenul solubil lăsînd complexul antigen-anticorp în supernatant pentru a fi măsurat.

BIBLIOGRAFIE

1. ALMEIDA J.D.: Visualization of fecal viruses. *N. Engl. J. Med.*, *292*, 1403—1405, 1975.
2. AVRAMEAS S., TERNYNCK T.: The Cross-linking of Proteins with Glutaraldehyde and its Use for the Preparation of Immunoadsorbents. *Immunochemistry*, *6*, 53—66, 1969.
3. AVRAMEAS S., TERNYNCK T.: Peroxidase Labelled Antibody and *Fab* Conjugates with Enhanced Intracellular Penetration. *Immunochemistry*, *8*, 871, 1971.
4. BERSON S.A., JALOW R.: *Methods in Investigative and Diagnostic Endocrinology*. North Holland Publ. Co., Amsterdam, 1973.
5. BRONSON D.L., GRAHAM B.J., LUDWIG H.: Studies on the Relatedness of Herpes viruses through DNA—RNA hybridization. *Biochim. Biophys. Acta*, *259*, 24, 1972.
6. CHANAS A.C., JOHNSON B.K., SIMPSON D.I.H.: Antigenic Relationships of Alphaviruses by a Simple micro-culture Cross-neutralization Method. *J. Gen. Virol.*, *32*, 295—300, 1976.
7. GANCEVICI G., GHIȚESCU L., CĂLUGĂREANU-FLONTA L.M., PĂTRU I.: Light Scattering Assay of Haemolytic Antibody. A Rapid and Sensitive Non-flow Procedure For Quantitation of Complement Fixing Activity. *Arch. roum. Path. Exp. Microbiol.*, *35*, 4, 335—362, 1976.
8. GRABOW W.O.K., PROZESKY O.W.: Isolation and Purification of Hepatitis-associated Antigen by Affinity Chromatography with Baboon Antiserum. *J. Infect. Dis.*, *127*, 2, 183—185, 1973.
9. HOWE C., LEE L.T.: Virus-Erythrocyte Interactions, în *Advances in virus Research* (Smith K.M. et all.), vol. 17, 1—50, Acad. Press., New York, 1972.
10. HUNTER W.M.: The Preparation of Radioiodinated Proteins of High Activity, Their Reaction with Antibody *in vitro*: The Radioimmunoassay, p. 608, în M.D. Weir (Ed.): *Handbook of Experimental Immunology*, Blackwell, Oxford, 1967.
11. ISCRULESCU I., ISPĂȘOIU, GH., PETRESCU V.: *Sistemul Internațional de unități de măsură*, Edit. tehnică, București, 1970.
12. JUPILLE T.H., PERRY J.A.: Programmed Multiple Developement in Thin Layer Chromatography. *Science*, *194*, 289, 1976.
13. MITRICA N. și colab.: *Reactivi imunochimici*. Edit. Inst. Cantacuzino, București, 1977.
14. MITRICA N., SZEGLI G. și colab.: *Tehnici de izolarea, caracterizarea și conservarea macromoleculelor biologice*. Ed. Inst. Cantacuzino, București, 1975.
15. NISHIOKA K.: Immune Adherence Hemagglutination for Detection of Australia Antigen. *Amer. J. Dis. Child.*, *128*, 4, 406—407, 1972.
16. OXFORD J.S., SCHILD G.C.: Quantification of Influenza virus Structural Proteins Using Rocket Immunoelectrophoresis. *J. Gen. Virol.*, *38*, 187—193, 1977.

17. PONS M.W., HIRST G.K. : Polyacrylamide gel Electrophoresis of the Replicative Form of Influenza Virus RNA. *Virology*, *35*, 182, 1968.

18. REISFELD R.A., KAHAN B.D. : Extraction and Purification of Soluble Histocompatibility Antigens. *Transplant. Rev.*, *6*, 81—112, 1971.

19. VYAS G.N. : Hepatitis B Antigen and Antibodies : Detection by Hemagglutination Assay. *Amer. J. med. Technol.*, *38*, 9, 366, 1972.

20. WOOD J.M., NEWMAN R. W., SCHILD G.C., SILVER M. : Reagents for Single-radial--diffusion Assay of the Haemagglutinin Antigens of A/New Jersey/8/76 (Hswl N1) and B/Hong Kong /8/73 Strains of Influenza Virus. *J. Biol. Standardiz.*, *6*, 63—66, 1978.

21. WOOD J.M., SCHILD G.C., NEWMAN, R.W., SEAGROATT V. : An Improved Single--radial-immunodiffusion Tehnique for the Assay of Influenza Haemagglutinin Antigen : Application for Potency Determination of Inactivated Whole Virus and Subunit Vaccines. *J. Biol. Standardiz.*, *5*, 237—247, 1977.

22. WORLD HLTH ORG. : *The S.I. for the Health Professions.* W.H.O., Geneva, 1977.

23. WORLD HLTH ORG. MEMORANDUM : The Enzyme-linked Immunosorbent Assay. (ELISA) *Bull. Wld Hlth Org.*, *54*, 129—139, 1976.

24. YALOW R.S., BERSON S.A. : Immunoassay of Endogenous Plasma Insulin in Man. *J. Clin. Invest.*, *39*, 1157, 1960.

25. *** *Sistemul internațional de unități (SI)* Editura didactică și pedagogică, București, 1979.

XXXVIII. STRUCTURA ŞI COMPOZIŢIA CHIMICĂ A VIRUSURILOR

Studiul virusurilor, datorită caracterului particular al obiectului său, permite evidenţierea cu mai multă uşurinţă a relaţiilor între structură şi funcţie.

1. COMPOZIŢIA CHIMICĂ

Componentele principale sînt acizii nucleici şi proteine.

Unele virusuri conţin în plus lipide (fosfatide, grăsimi neutre, acizi graşi, cholesterol neesterificat), hidraţi de carbon, poliamine, uneori metale (tabel 95).

a) **Acizi nucleici**. De tip RNA sau DNA, niciodată ambii în acelaşi virion, este purtătorul informaţiei genetice necesară replicării virusului (tabel 91, 92 şi 96).

Greutatea moleculară minimă de acid nucleic pentru replicare autonomă este de 1×10^6 RNA sau 1.2×10^6 DNA. Virusurile mari au cantităţi mari de acid nucleic : reovirus posedă 15×10^6 RNA iar poxvirus 160×10^6 DNA.

Combinaţia de baze nucleotidice în structura acizilor nucleici la diferite virusuri variază în largă măsură de la un grup de virusuri la altul (tabel 96) şi în acelaşi grup de la un virus la altul, fiecare specie avînd o raţie caracteristică de baze.

Molecula poate fi *monospirală* (cum sînt majoritatea RNA-virusurilor) sau *dublu spirală* (cum sînt majoritatea DNA-virusurile) ; *lineară* (la majoritatea virusurilor) sau *circulară* (Papovaviridae).

Genomul viral poate fi constituit din *fragment unic* (toate dezoxiribovirusurile şi multe ribovirusuri) sau distribuit în *fragmente multiple* (8 fragmente la Orthomyxoviridae, 4 la Retroviridae şi 10 la Reoviridae).

Fragmentarea genomului poate influenţa gruparea caracterelor supuse recombinării genetice.

În virionul intact acidul nucleic este metabolic inert. Pentru a iniţia procesul infecţios acidul nucleic trebuie liberat din containerul capsidic.

Important pentru mecanismul replicării este sensul genomului : la *virusurile cu genom „pozitiv"* molecula de acid nucleic viral funcţionează ca mRNA în celula infectată (ex. : picornavirus şi togavirus), în consecinţă acidul nucleic în stare chimic pură este infecţios.

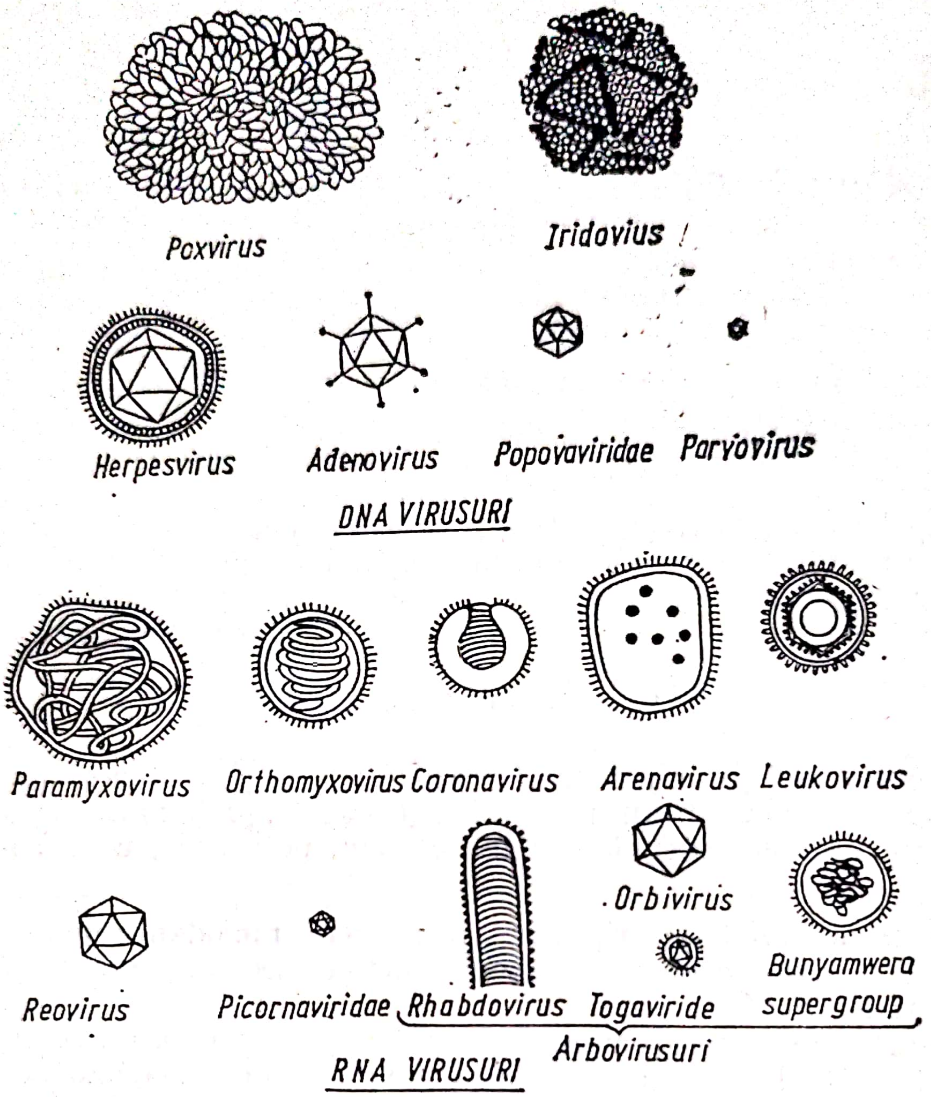

Poxvirus
Iridovius
Herpesvirus
Adenovirus
Popovaviridae
Parvovirus
DNA VIRUSURI
Paramyxovirus
Orthomyxovirus
Coronavirus
Arenavirus
Leukovirus
Orbivirus
Reovirus
Picornaviridae
Rhabdovirus
Togaviride
Bunyamwera supergroup
Arbovirusuri
RNA VIRUSURI

Fig. 170 : Diagramă ilustrînd forme și dimensiuni relative a grupelor taxonomice majore de virusuri animale (după *Fenner, F.* și *White, D.O.*)

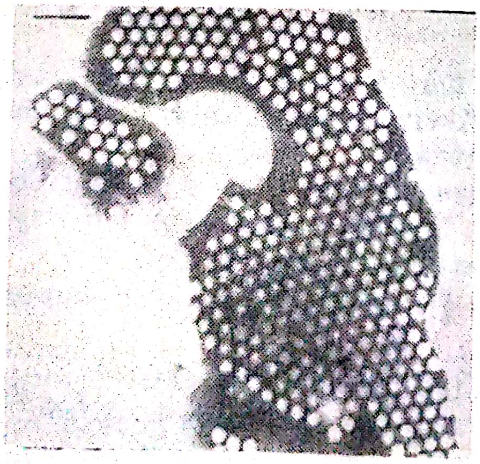


Fig. 171 : Electronomicrografie a particulelor de rhinovirus tip 14, „colorate negativ" cu fosfotungstat (× 125 000) (*McGregor, S.*)

La *virusurile cu genom „negativ"* molecula este complementară față de mRNA (ex. : Myxovirus etc.) de aceea acidul nucleic nu este infecțios în absența enzimei, transcriptaza, asociată virionului.

b) **Proteine virale.** Sînt o componentă principală a virionului. Capsomerele virusurilor mici sînt formate din una sau două polipeptide diferite pe cînd la virusuri mari pot avea chiar douăzeci de polipeptide (tabel 95).

Funcții : — *protecția* acidului nucleic viral, în primul rînd față de nucleaze ;

— conferă virionului *stabilitatea* structurală, de unde tipuri diferite de simetrie arhitecturală (design) a nucleocapsidelor virale și forme de virioni;

— *atașarea* la situsurile receptor specific de pe celula gazdă prin intermediul a componente proteice din suprafața virionului cu afinități speciale; grație lor virusul ocupă pe suprafața celulei o poziție strategică din care poate pătrunde în celula gazdă și iniția procesul infecției;

— sînt *antigenice și imunogene*: conțin antigenele virale care stimulează răspunsul imun al gazdei în cursul infecției; conferă virusului caracterele serologice pe baza cărora se recunosc grupe, tipuri, subtipuri, tulpini individuale și mutanți;

— hemaglutinina și neuraminidaza, sînt *peplomere* prezente sub formă de țepi orientați axial (axul lor lung trece prin centrul particulei), distribuiți ordonat în învelișul ortho- și paramyxovirusurilor sînt proteine glicozilate (glicoproteine antigenice) care determină atașarea virionului la receptorii celulari.

c) **Enzime virale** (asociate virionului). Sînt proteine virus-specifice antigenice și imunogene. Enzimele necesare replicării sînt codificate în genomul viral (apar în celulă ca produse de expresie fenotipică, funcțională a genelor virale). Există însă numeroase grupe de virusuri în al căror virion sînt incluse enzime (proteine structurale) ca de ex.:

(i) *Neuraminidaza* * (*sau sialidaza*) prezentă în învelișul myxovirusurilor. Nu este o enzimă sintetizantă sau furnizoare de energie ci, prin fluidificarea mucusului **, facilitează accesul la receptori; apoi, în stadiul final al înmuguririi, prin liza receptorilor mucopolizaharidici (de unde și numele de „*receptor destroying enzyme*", RDE), permite eliberarea virionilor maturați prin învelire în membrane. O funcție analoagă execută *muramidaza* prezentă la virionul colifagului T_2.

Anticorpii antineuraminidază bivalenți nu împiedică infecția, replicarea și eliberarea virusului, în schimb, prin agregarea virionilor, reduc producția de virus.

(ii) *Enzime esențiale pentru inițierea replicării, asociate virionului matur* (tabel 91, 92; 103 și 104). Cu excepția picorna- și togavirusurilor care au genom „pozitiv" (poate fi translat de aparatul gazdei), toate grupele de DNA și RNA virusuri, mono- sau bispirale, au genom „negativ" adică spira translatabilă, purtătoarea informației, este complementară față de mRNA. În consecință, transferul informației este operat de o enzimă (polimerază de acid nucleic) prezentă în structura virionului și care construiește primul mRNA viral. În funcție de acidul nucleic recunoscut ca matriță există *RNA polimerază-DNA dependentă* la DNA virusuri (care confecționează transcripte, cRNA) și *RNA polimerază-RNA dependentă* la RNA virusuri (care face cRNA).

---

* Neuraminidază (RDE) posedă numeroase bacterii a căror habitat sînt mucoasele ciliate (respiratorie, intestinală); fără a fi obligatorie pentru multiplicare, enzima favorizează colonizarea și infecția mucoaselor prin îndepărtarea mucusului protector; enzima apare ca un mecanism elaborat pentru adaptare la condițiile specifice reprezentate de membranele mucoase.

** Prin depolimerizarea acidului N-acetil neuraminic (NANA), eliberează un număr determinat de molecule de acid sialic și prin aceasta fluidifică mucinele.

În virusurile *oncogene cu RNA* există cîteva enzime speciale implicate în metabolismul acizilor nucleici: 1) *DNA polimeraza-RNA dependentă* sau *reverstranscriptaza* (revertaza) care transferă informaţia în sens invers de la RNA la DNA construind cDNA, antimesageri; 2) *DNA ligaza* care integrează provirusul DNA în genomul gazdă; 3) *DNA exo- şi endonucleaze* care modifică structural genomul gazdă.

d) **Lipide.** În cursul eliberării printr-un proces de înmugurire din membrana nucleară sau citoplasmică, unele virusuri (virusuri învelite) capătă la exterior un înveliş lipo-glico-proteinic derivat în parte din membranele celulei gazdă. Lipidele cimentează proteinele codificate de virus (ex. hemaglutinina) din învelişul viral. Solvenţii lipidelor (eter, cloroform, săruri biliare etc.) dezintegrează învelişul viral şi prin aceasta inactivează virusul. Sînt simple fosfolipide şi glicolipide prezente şi în variate ţesuturi şi celule (ex. fosfolipidele şi glicolipidele, cefalina, sfingomielina şi lecitina la myxovirus, herpesvirus) spre deosebire de acizii nucleici şi proteine care sînt polimeri cu o mare specificitate.

Este posibil ca prin „înmugurire" învelişul viral să capete o compoziţie fosfolipidică specifică pentru un anumit tip de celulă gazdă. Astfel, învelişul virusului herpetic are o compoziţie fosfolipidică corespunzînd membranei nucleare interne şi diferită de membrana nucleară externă sau membranele citoplasmice.

e) **Hidraţi de carbon.** Sînt prezenţi în învelişurile virale sub formă de glicoproteine conţinînd monozaharuri (glucozamină, fucoză, galactoză, manoză) ca de exemplu în structura hemaglutininei şi neuraminidazei la myxovirusuri şi în compoziţia antigenului specific de grup sau de tip la oncornavirusuri şi togavirusuri. Sinteza lor este controlată genetic de către virus şi, într-o măsură variabilă, de către gazdă.

2. HEMAGLUTINAREA VIRALĂ

Hematii de om, pasăre şi alte vertebrate pot fi aglutinate de anumite virusuri prin mecanisme diferite.

(i) *Myxovirusurile* posedă *hemaglutinină* (glicoproteină) în structura învelişului viral prin intermediul cărora se fixează de receptorii hematiilor aglutinîndu-le. Graţie neuraminidazei, plasată de asemenea în învelişul viral şi care topeşte receptorul, virusul eluează spontan. Hematiile nu mai pot servi a doua oară pentru aglutinare prin aceeaşi specie de myxovirus în timp ce virusul eluat poate aglutina hematii noi.

Fenomenul poate fi folosit pentru purificarea myxovirusurilor, pentru evidenţierea lor la gazde de laborator (ouă embrionate, culturi de celule) infectate.

Hemaglutinine virale prezente în membrana celulei infectate ataşează hematii pe suprafaţa celulei prin acelaşi mecanism (*hemadsorbţie*).

Atît mucopolizaharide (inhibitori nespecifici prezenţi în mod normal în ţesuturi, uneori şi în secreţii în cum sînt ser sanguin, salivă, spută, albuş de ou, urină, mucină din chist de ovar, lichid alantoidian, stroma globulară etc.), cît şi anticorpii specifici antihemaglutinină, inhibă hemaglutinarea dată de myxovirusuri.

(ii) *Togavirusurile* au hemaglutinină prezentă în însăși virion iar hemaglutinarea este reversibilă în funcție de *p*H.

(iii) *Poxvirusurile* posedă o hemaglutinină specifică, nestructurală (separabilă de virusul matur infectant), de natură complexă fosfolipoid-proteinică.

(iv) Numeroși membri ai Echo- și Coxsackie-virusurilor au proprietăți hemaglutinante care nu se pot separa de infectivitatea virionilor.

Hemaglutinarea prin virusuri este folosită larg pentru recunoașterea și separarea virusurilor din complexe și mai ales pentru punerea în evidență și titrarea anticorpilor (serodiagnostic) prin reacții de inhibare a hemaglutinării sau de imunhemoliză radială.

3. SUSCEPTIBILITATEA LA AGENȚI FIZICI ȘI CHIMICI

În afara organismului gazdă și la temperatura camerei (20°—22°C) multe virusuri sînt labile și supraviețuiesc doar cîteva ore (ex. : virusul gripal, oreionului, rujeolic). Alte virusuri (ex. : poliomielitic, variolic) sînt mult mai rezistente (săptămîni, luni) în condiții atmosferice obișnuite.

(i) *Frigul și căldura.* Virusurile animale sînt în general ușor inactivate de căldura moderată (56°—60°C timp de 30 minute), cu unele excepții notabile cum sînt poliovirus, virusul hepatitei tip B, virusul scrapie, virusul adenosatelit.

La temperaturi scăzute de —35°C sau —70°C rezistă timp îndelungat (metodă de păstrare în laborator).

Majoritatea virusurilor și vaccinurilor vii se conservă prin uscare în vid din stare congelată (liofilizare) necesitînd uneori adăugarea unui produs protector (albumină serică, triptoză, lapte ecremat).

Înghețul-dezghețul repetat este distrugător pentru virusurile cu înveliș.

(ii) *Variații de p*H. De obicei, virusurile rămîn viabile între valori *p*H 5.0—9.0 și sînt distruse în afara acestor limite.

Unele proprietăți, ca de exemplu hemaglutinarea la togavirusuri sînt puternic influențate de mici variații de *p*H.

(iii) *Radiații.* În doze variabile, virusurile sînt sensibile la iradierea cu ultraviolete, radiație X, particule de mare energie.

(iv) *Glicerol.* În soluție 50% bacteriile nesporulate sînt ucise pe cînd unele virusuri sînt conservate luni chiar ani la 4°C (poliovirus, rabic, herpes simplex). Alte virusuri sînt inactivate (rhinovirusuri).

(v) *Coloranți vitali.* Roșu neutru, acridin-oranj, albastru de toluidină se leagă la acidul nucleic viral care devine astfel sensibil la acțiunea inactivantă a luminii vizibile și ultraviolete (inactivare fotodinamică). În asemenea condiții însă virusul herpetic produce mutanți cu acțiune oncogenă, experimental demonstrată la hamster sugar.

Indiferent de tipul de acid nucleic, DNA sau RNA, după colorare cu acridin-oranj, virusurile cu acid nucleic dubluspiral prezintă o fluorescență de culoare *galbenă* în timp ce virusurile cu acid nucleic monospiral au fluorescență *roșie*.

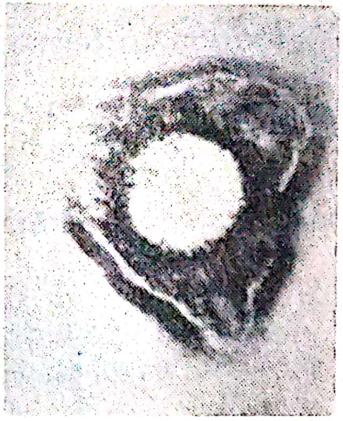


Fig. 172: Electronomicrografia unei particule de virus herpetic „colorată negativ" cu fosfotungstat. Se observă nucleocapsida central, capsomere și învelișul extern (× 450 000) (*Wildy, P.*)

Folosind această reacție pe preparate celulare infectate cu virus obținute prin digestie enzimatică (cu RN-ază și DN-ază) se poate determina tipul de acid nucleic viral (tabel 98).

(vi) *Sensibilitate la eter.* Virusurile cu învelișuri externe sînt inactivate în timp ce virusurile „goale" sînt rezistente (tabel 90 și 95). De o manieră similară reacționează la săruri biliare, solvenți organici, detergenți.

(vii) *Agenți virulicizi.* Cei mai activi sînt *agenții oxidanți* (peroxid de hidrogen, permanganat de potasiu, hipoclorați) și *derivații organici de iod.*

Formaldehida (agent reducător) este cel mai lent dar, în concentrații definite, permite inactivarea virusului cu păstrarea proprietăților antigenice și imunogene.

Glutaraldehida, agent fixator pentru țesuturi destinate examenului electronomicroscopic, este deosebit de activă față de virusul hepatitic tip B, fiind un agent valoros în dezinfecția aparaturii din unitățile de hemodializă (v. cap. VII).

Dezinfectanții fenolici și crezolici (ex.: lysol) nu sînt activi față de poliovirus sau virus variolic, încorporate în materie organică.

(viii) *Stabilizare prin săruri de magneziu, aluminiu, sodiu* (cationi bivalenți). Concentrații molare de aceste săruri stabilizează suspensii de anumite virusuri (tabel 99), care rezistă astfel față de încălzire timp de o oră la 50°C.

Vaccinuri virale cu virus viu, stabilizate în acest mod, pot fi folosite în condiții de temperatură ambiantă ridicată (ex.: la tropice) și, în plus, încălzirea le poate debarasa de virusuri de contaminare care nu sînt stabilizate prin săruri (ex.: SV40).

(ix) *Antibiotice și chimioterapice.* Sulfamidele, penicilina, streptomicina, și tetraciclinele nu au acțiune asupra virusurilor de aceea pot fi folosite

Tabelul 98

Identificarea acizilor nucleici virali cu acridin oranj (AO)

Frotiu viral fixat după metoda Carnoy	Reacția de colorare cu 0.01% AO la *p*H 4.0	Susceptibilitatea la enzimă	
		DN-aza	RN-aza
DNA virusuri dublu spirale	galben	+	−
DNA virusuri monospirale	roș	+	−
RNA virusuri monospirale	roș	−	+
RNA virusuri dublu spirale	galben	−	+

Tabelul 99

Stabilizarea virusurilor prin concentrații molare de săruri de Mg și Na

$MgCl_2$	$MgSO_4$	Na_2SO_4
Picornavirusuri:	Orthomyxovirus:	Herpesvirus:
Poliovirus	virus gripal	
Echovirus	Paramyxovirus:	Herpes simplex virus
Coxsackievirus	Parainfluența	
Rhinovirus	Virus rujeolic	
Reovirus	Virus rubeolic	

pentru debarasarea de bacteriile de contaminare sensibile, în vederea izolării de virusuri din spută, materii fecale etc.

Rifampicina și unii derivați inhibă polimerazele unor DNA și RNA virusuri.

Antibioticele și analogii metabolici care interferează sinteza DNA sau RNA vor inhiba și sinteza virusurilor dar sînt prea toxice pentru a avea valoare terapeutică.

4. DESIGN ȘI CONSTRUCȚIA VIRIONILOR

Autoasamblarea * virionilor este un proces controlat care constă din aranjarea componentelor structurale după un design determinat de proprietățile de legare a proteinelor între ele și cu acidul nucleic viral dînd naștere în final *virionului*.

Există două tipuri principale de simetrie structurală pentru majoritatea virusurilor :

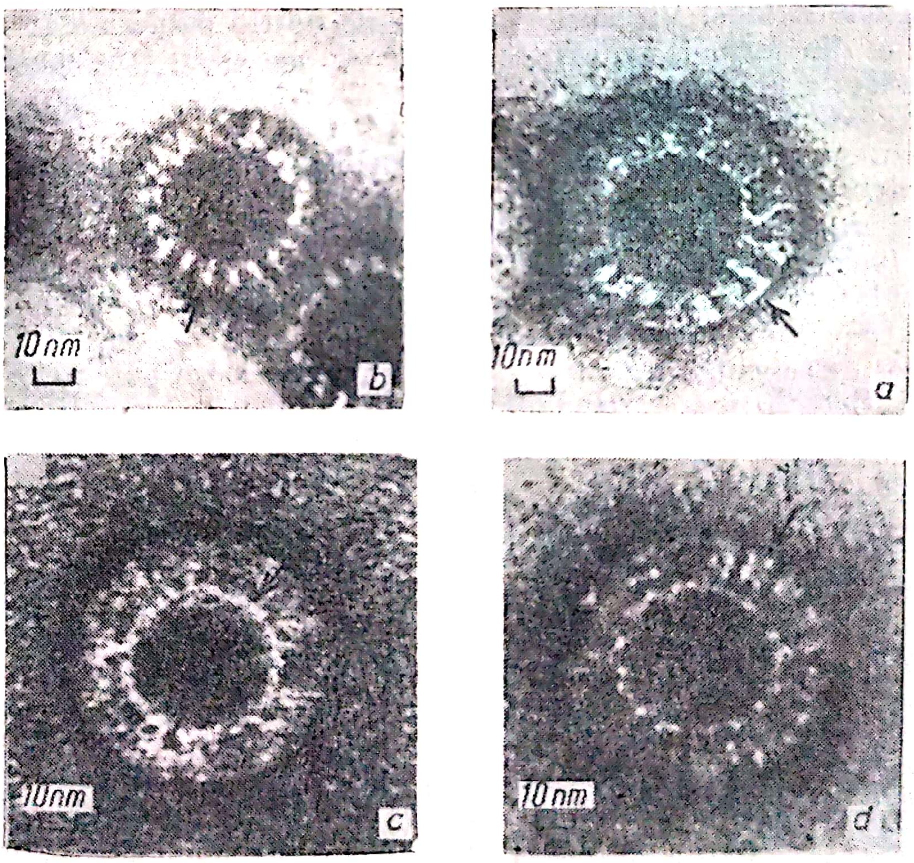


Fig. 173 : Electronomicrografii a particule de Reovirus (agentul gastroenteritei infantile) (colorate ,,negativ'' cu fosfotungstat).

a ; Virionul are trei straturi caracteristice (săgeata indică stratul extern) ;
b : virion care a pierdut stratul extern (săgeata arată capsomerele radiale) ;
c și *d* : particule privite din axe de simetrie diferite. (*Palmer, E.L.*, și colab).

---

* Autoasamblarea este un proces înrudit cu cristalizarea, este guvernat de legile mecanicii statice și rezultatul este o structură ordonată, condensată și stabilă, cu cea mai redusă pierdere de energie.

(i) simetrie isometrică sau *icosaedrică* prezentă la capside „sferice" și

(ii) simetrie *helicală* sau *spiralară* formînd structuri tubulare de lungime și flexibilitate variabile.

Din modul de aranjare al *unităților structurale chimice* (cele mai mici unități structurale funcțional echivalente ale capsidei și care pot fi un singur lanț polipeptidic sau un agregat de lanțuri identice sau diferite) rezultă structuri vizibile la microscopul electronic, *unități morfologice* sau *capsomere*, care la rîndul lor se grupează ordonat prin legături ne-covalente pentru a constitui *capsida*.

La virusul mozaicului tutunului capsomerele sînt „monomere" deoarece conțin o singură unitate structurală chimică, un lanț polipeptidic cu gr. mol. $20-30 \times 10^{6}$, care se repetă de 2130 ori pe lungimea de 300 nm a unui virion.

La microscopul electronic, capsidele virusurilor cubic-iscosahedrice colorate negativ apar ca prisme goale cu o secțiune pentagonală (*pentamera*) sau hexagonală (*hexamera*) fiecare repetîndu-se într-un număr precis. Caracterul repetitiv al unităților structurale înseamnă economie de informație genetică, design simplificat, ușurință în construcție și montaj.

a) **Capside cubice.** Virusurile cu simetrie de tip cubic iau forma de *icosaedru*, una din formele poliedrice clasice ale geometriei în spațiu.

Icosaedrul are 20 fațete triunghiulare echilaterale, 12 vertexuri sau colțuri și 3 axe de simetrie rotațională, 5.3.2 * (fig. 174—178).

Aranjamentul capsomerelor în capside icosaedrice este supus regulilor cristalografice. Numărul minim este 12, cîte o capsomeră la fiecare din colțuri. Numerele următoare găsite la virusurile animale sînt 32, 42, 72, 92, 162, 252 (vezi tabelul 90). Cele plasate în colțuri se ating cu cinci vecine și au cinci laturi (pentamere sau pentone) și sînt totdeauna în număr de 12. Cele plasate pe muchii sau în cîmp se învecinează cu șase capsomere, au șase laturi (hexamere sau hexone) și sînt în număr determinat de dimensiunea virionului. Cele 20 fațete triunghiulare ale icosaedrului pot fi subîmpărțite în triunghiuri și mai mici, solidul care rezultă fiind un *icosaedeltaedron* **.

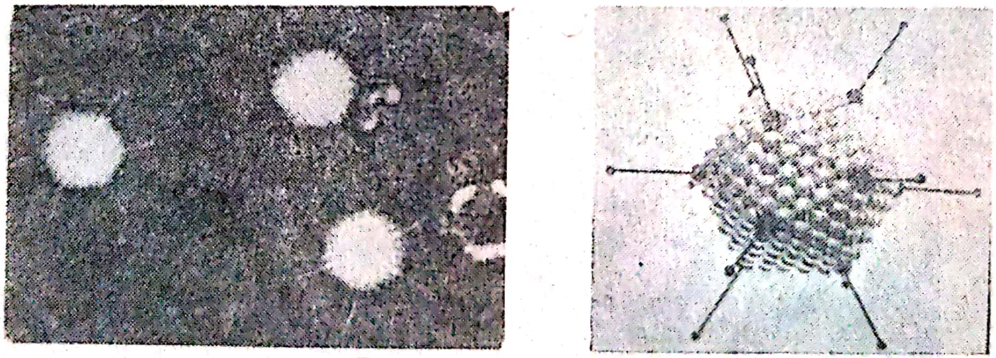


Fig. 174: Adenovirus.

A: Se observă fibrele atașate la pentone (× 200.000)
B: Model structural al virionului. (*Pereira, H.G.* și *Valentine, R.C.*)

---

* Icosaedrul are 3 feluri de axe: (i) ax care trece printr-un colț și centrul corpului, (ii) ax care trece prin centrul fațetei triunghiulare echilaterale și (iii) ax care trece prin mijlocul muchiei (laturii) și centrul particulei. Rotînd icosaedrul în jurul acestor axe se oferă privitorului 5, 3 și respectiv 2 aspecte noi.

** În arhitectură se știe că domul sau sfera capătă rezistență și soliditate ca urmare a unui asemenea tip de structură (ca de exemplu „domul geodezic" al lui R. Buckminster Fuller format din hexamere și pentamere).

Numărul total de capsomere al unui virus poate fi calculat folosind formula $10\ (n-1)^2+2$, în care n = numărul de capsomere pe o latură a feței triunghiulare (văzute la microscopul electronic). De exemplu, la virusul herpetic $n=5$ deci $10(5-1)^2+2=162$ capsomere din care 12 sînt pentone și 150 hexone. Fiecare pentonă prezintă o fibră (ca un ac cu gămălie) formată din cel puțin două proteine distincte prin intermediul cărora virionul se atașează la receptori celulari. Posibil, nu toate virusurile cu simetrie cubică sînt icosaedre.

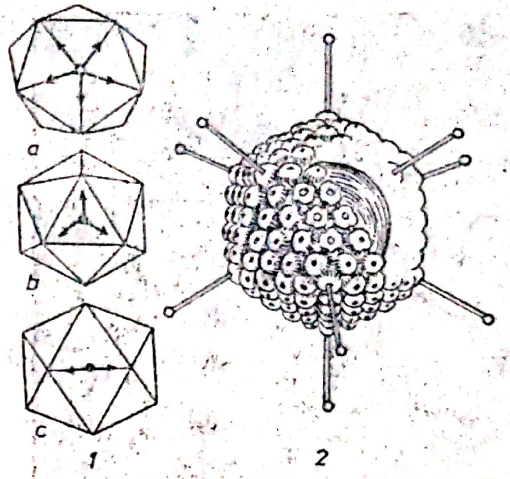


Fig. 175 : Structura adenovirusului. Virion cu simetrie icosaedrică :

1 : icosaedrul privit din cele trei axe de simetrie 5 : 3 : 2 ; *2* : miezul sferic conține DNA ; capsida este alcătuită din 12 pentamere plasate în colțurile icosaedrului (la care sînt atașate fibre) și 240 hexamere plasate pe fețe.

Reovirusurile diferă de alte virusuri icosaedrice prin aceea că au o capsidă formată din două straturi de capsomere și au RNA dublu spiral.

b) **Capside helicale.** Structural, simetria helicală este mai simplă deoarece are un singur ax rotațional care coincide cu axul moleculei cilindrice de acid nucleic.

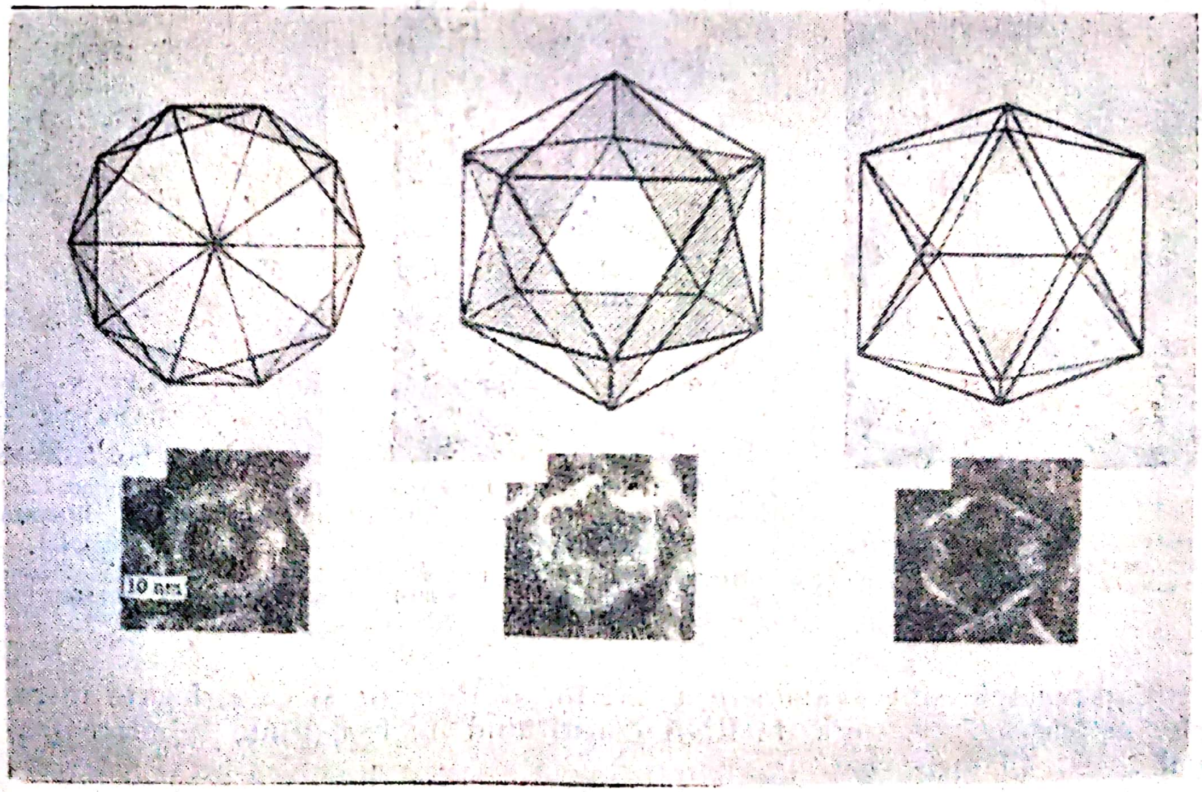


Fig. 176 : Structura particulei de orbivirus.

a, b, c : Scheme reprezentînd particula de orbivirus privită din cele trei axe de simetrie 5 : 3 : 2 ; *d, e, f* : particule de virus plasate în axele de simetrie schematizate în rîndul de sus. (*Palmer, E.L.* și colab.)

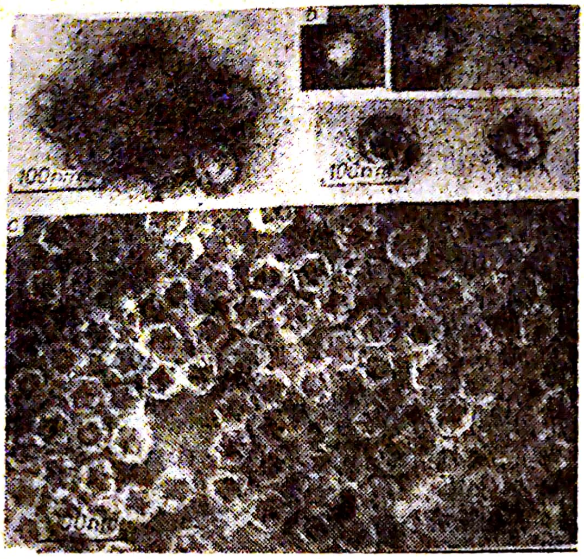
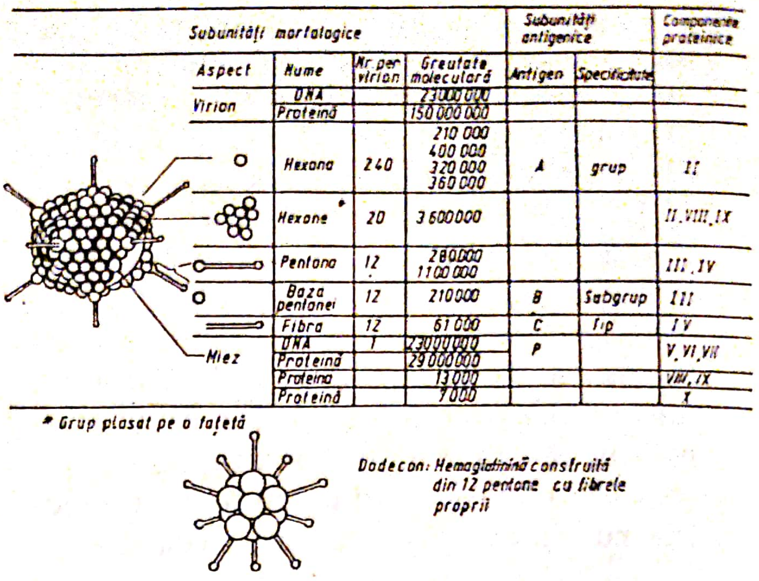


Fig. 177 : Structura internă a trei reprezentanți ai familiei *Reoviridae*.

a : Miezul particulei de virus al gastroenteritei infantile.
b : Diferite forme de capside interne la reovirus.
c : Particule de orbivirus („blue tongue virus"). (*Palmer E.L.* și colab.).



Subunități morfologice				Subunități antigenice		Componente proteinice
Aspect	Nume	Nr. per virion	Greutate moleculară	Antigen	Specificitate	
Virion	DNA		23 000 000			
	Proteină		150 000 000			
○	Hexona	240	210 000 400 000 320 000 360 000	A	grup	II
	Hexone*	20	3 600 000			II, VIII, IX
	Pentona	12	280 000 1 100 000			III, IV
○	Baza pentonei	12	210 000	B	Subgrup	III
	Fibra	12	61 000	C	Tip	IV
Miez	DNA	1	23 000 000	P		V, VI, VII
	Proteină		29 000 000			
	Proteina		13 000			VIII, IX
	Proteină		7 000			X

* Grup plasat pe o fațetă

Dodecon: Hemaglutinină construită din 12 pentone cu fibrele proprii

Fig. 178 : Structura microanatomică a adenovirusului.

Schema evidențiază subunități morfologice (vizibile la microscopul electronic), antigenice (identificate prin metode imunochimice) și componente proteinice (demonstrate biochimic). (după *Jawetz, E.* și colab).

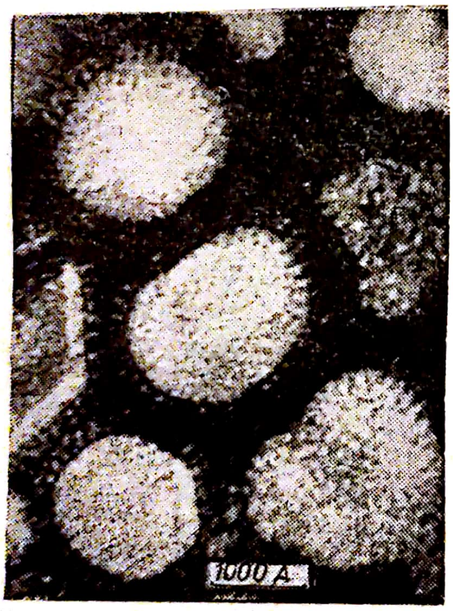


Fig. 179: Virus gripal.

Virioni intacți, impregnați cu fosfotungstat. Se observă proiecțiile pe suprafața învelișului extern.(*Hoyle, L.*, și colab.)

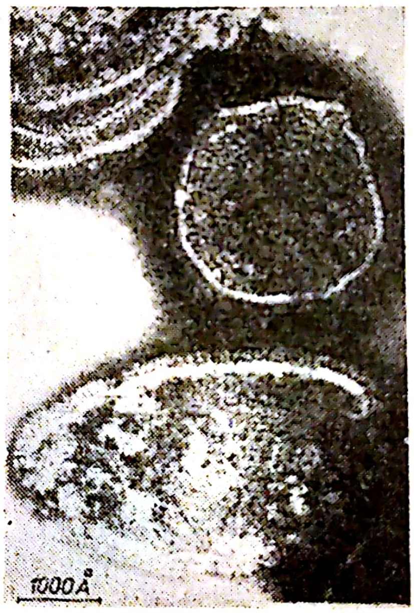


Fig. 180: Particule de virus rujeolic intacte (mijloc) și în dezagregare.

Electronomicrografie după impregnare cu fosfotungstat (× 320 000) (*Almeida, J.D.* și *Howatson, A.F.*)

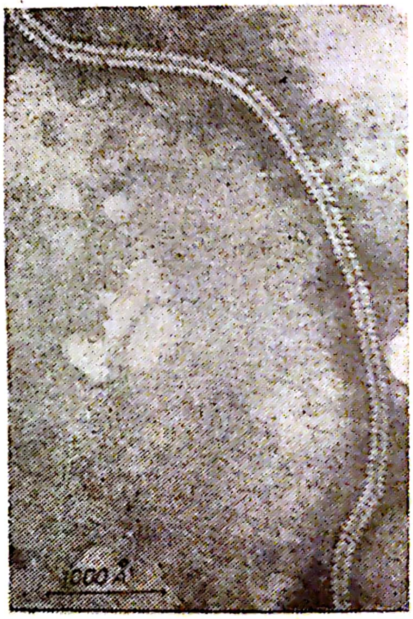


Fig. 181 : Componenta internă (nucleoproteina) liberată din virusul rujeolei.

Electronomicrografie după contrastare cu fosfotungstat (× 320 000). (*Almeida, J.D.* și *Howatson A.F.*)

Capsomerele sînt monomere avînd formă de pene și care, legate între ele, se plasează pe spira de RNA constituind nucleocapside tubulare (cu gol axial), filamentoase.

Pe fiecare spiră se aranjează un anumit număr de capsomere, avînd una față de alta un unghi de rotație constant. Stabilitatea este conferită de legăturile între monomerele învecinate de pe aceeași spiră și de pe spirele adiacente. Structura tubulară care rezultă este flexibilă și se pliază pe ea însăși formînd fie un „ghem" (ex. : myxovirus), un „glonț" (ex. : rhabdovirus) sau „călimară" (ex. : coronavirus) (fig. 185, 186).

c) **Învelișuri virale sau peplos.** În fazele finale ale ciclului de replicare, nucleocapsidele unor virusuri capătă un înveliș lipo-proteinic derivat din membrane citoplasmice sau nucleare ale celulei gazdă. Aceste membrane sînt modificate în prealabil prin implantare de monomere glicoproteinice virus—specifice (codificate de genomul viral) avînd în general forma de fire și fiind distribuite regulat pe suprafața învelișului viral ca niște spini sau ace cu gămălie, denumite și *peplomere*.

Constituie antigenele virale „de suprafață".

Myxovirusurile, a căror simetrie este de tip helical, posedă un înveliș derivat din membrana citoplasmică în care sînt plasate două feluri de *proiecții de suprafață*, hemaglutinina și neuraminidaza. Extremitatea hidrofobă a acestora este implantată în lipidul învelișului viral și extremitatea hidrofilă este orientată spre exterior.

Hemaglutinina este o prismă cu secțiune triunghiulară (un trimer de glicoproteină cu gr. mol. 80 000), cu gol central, lungă de 14 nm ; chimic, este un polimer format din molecule proteice identice legate de un carbohidrat celular. Anticorpii anti-hemaglutinină reacționează cu capătul distal (liber) al hemaglutininei. *Neuraminidaza* este o proteină virală distinctă de enzime similare prezente în celule normale. Învelișul lipidic, conținînd cele două glicoproteine, al myxovirusului este plasat pe un strat subjacent de proteină virală cu gr.mol. 26 000, denumit *proteina* M sau internă.

Herpesvirusurile au simetrie structurală de tip cubic — icosaedric și capătă un înveliș care derivă din membrana nucleară internă a celulei gazdă, modificată prin inserția de structuri virus-specifice.

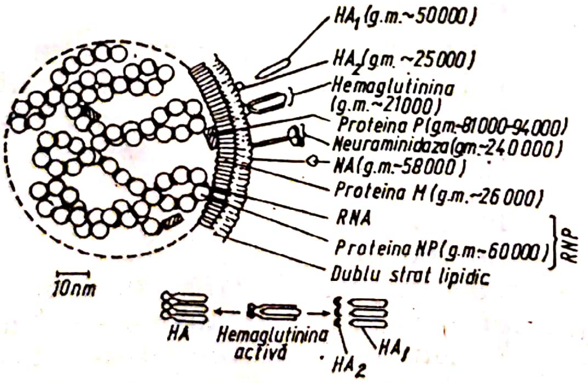


Fig. 182 : Modelul structural al virusului gripal, propus de I. Schulze în 1973 (pentru detalii vezi tabel 117).

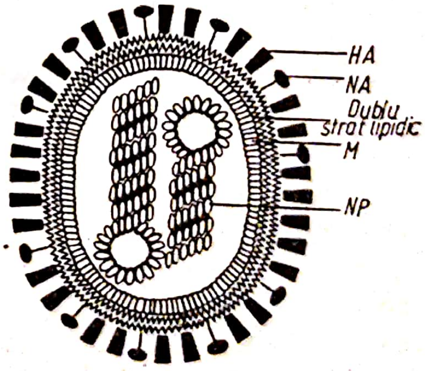


Fig. 183 : Modelul structural al virusului gripal propus de Compans, R.W. și Choppin, P.W. în 1975.

Miezul particulei este alcătuit din fragmente nucleocapsidice spiralate de două ori, de lungimi diferite și conținînd piese de lungimi diferite din genomul RNA monospiral.

Proiecții de suprafață similare au fost găsite la toate virusurile (RNA sau DNA) învelite (rhabdovirus, togavirus, oncornavirus, myxovirus, herpesvirus, coronavirus) și la unele virusuri neînvelite „goale" (adenovirus).

d) **Virusuri complexe**

(i) Pentru unele virusuri, ca de exemplu *virusul vaccinia*, se distinge un miez central ovalar, prelungit spre extremități prin doi corpi laterali sferici („în halteră"), compus din o moleculă DNA cu gr.mol. 160×10^6. Pe suprafață se aranjează buclele unei structuri tubulare cu diametrul de 9 nm. Nucleocapsida este învelită cu două (sau mai multe ?) membrane.

(ii) *Bacteriofagii* prezintă o mare variație structurală de la particule mici icosaedrice (cum sînt de exemplu fagul RNA monospiral f_2 sau fagul DNA monospiral ΦX174) pînă la structurile complexe ale fagilor din seria *T-par* (T_2, T_4, T_6) a *E.coli*.

Există fagi filamentoși cu DNA monospiral și circular ca de exemplu f_2 care au simetrie helicală, virionul avînd o lungime de 800 — 850 nm și un diametru de 6,5 nm.

La *fagii T* se distinge un *cap* poliedric care conține DNA dublu spiral la care se atașează o *coadă* de lungime variată. *Capul fagului* T_4 are diametrul de 65 nm și o lungime de 100 nm iar *coada*, lungă de 100 nm și cu un diametru de 25 nm, este formată dintr-un *tub cilindric rigid* cu diametru 7 nm, învelit într-un *manșon* sau teacă contractilă fixată la baza capului printr-o piesă numită *guler* și terminată, la extremitatea liberă, prin *placa bazală* hexagonală. La fiecare din cele 6 colțuri ale plăcii se află un *vîrf* scurt și cîte o *fibră caudală* lungă de 130 nm.

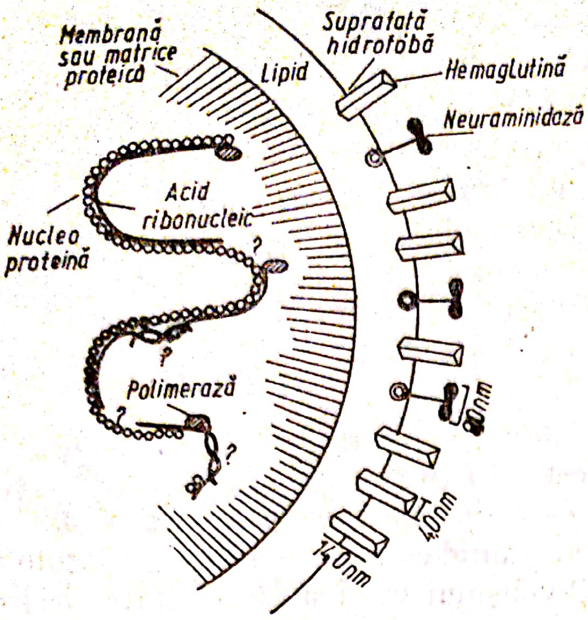


Fig. 184 : Diagramă reprezentînd o parte din virionul gripal.

Fragmentele de complex RNA-proteină din miezul particulei apar unite prin legături labile. În virion este prezentă RNA-polimerază. (*Webster, R.G.* și *Laver, W.C.*)

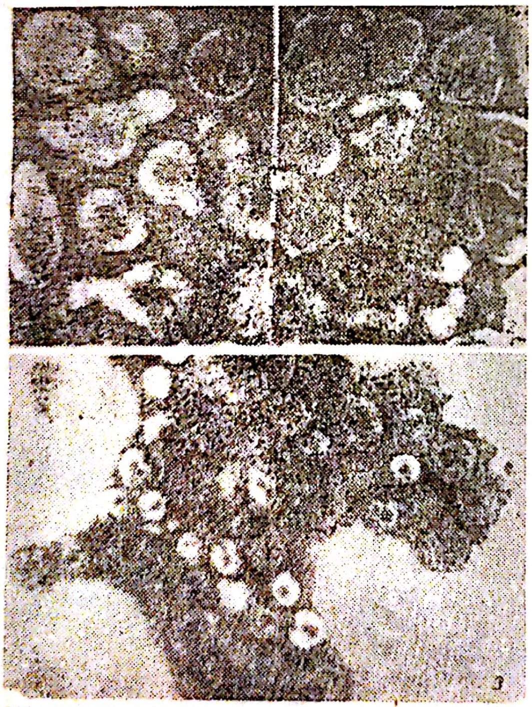


Fig. 185 : Electronomicrografii ale particulei de Coronavirus (agentul bronșitei infecțioase).

1 : aspecte caracteristice, pleomorfe (× 150 000); *2* : particule tratate cu detergent care au pierdut componenta de suprafață, în schimb se observă structura internă în formă de limbă (× 150 000); *3* : particule tratate cu formaldehidă au aspect complet : proiecții de suprafață și structura internă. (*Bingham, R.W.* și *Almeida, J.D.*)

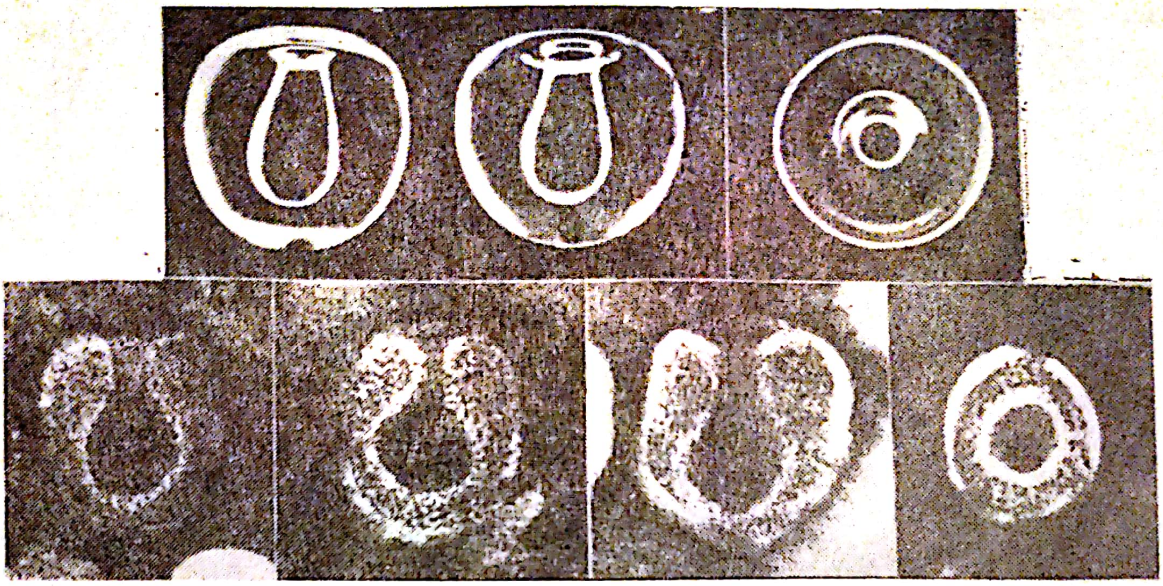


Fig. 186 : Structura Coronavirus.

Trei orientări diferite a unui model din sticlă sînt comparate cu patru particule de virus, mărite de × 330 000. (*Bingham, R.W.* și *Almeida, J.D.*)

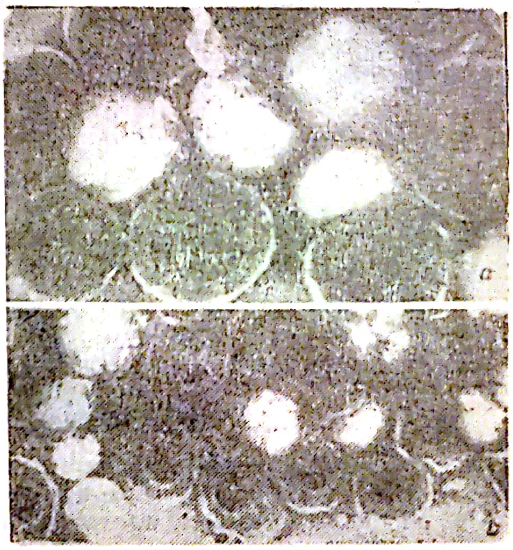


Fig. 187 : Imunoelectronomicrografii ale preparatelor de virus herpetic purificat în gradient.

a : virioni tipici, înveliți, majoritatea cu nucleocapsidă internă (× 125 000);
b : arie de corpi denși. (*Talbot, P.* și *Almeida, J.D.*)

Alți fagi cum sînt λ sau *T-impar* au o construcție similară, coada avînd însă dimensiuni variate și fiind lipsită de manșon contractil.

Structurile fragile existente pe stratul cel mai extern al virionilor, indiferent de tipul de simetrie ori de prezența sau absența unui înveliș, sînt suportul unor funcții esențiale pentru inițierea infecției celulei gazdă, și anume, atașarea la receptori. Aceste structuri sînt glicoproteine (la virusurile cu membrane) sau proteine (la virusuri goale), sînt codificate de genomul viral și sînt antigenice și imunogene. Anticorpii față de aceste structuri (antigene „de suprafață") neutralizează infecția prin blocarea atașării la receptor.

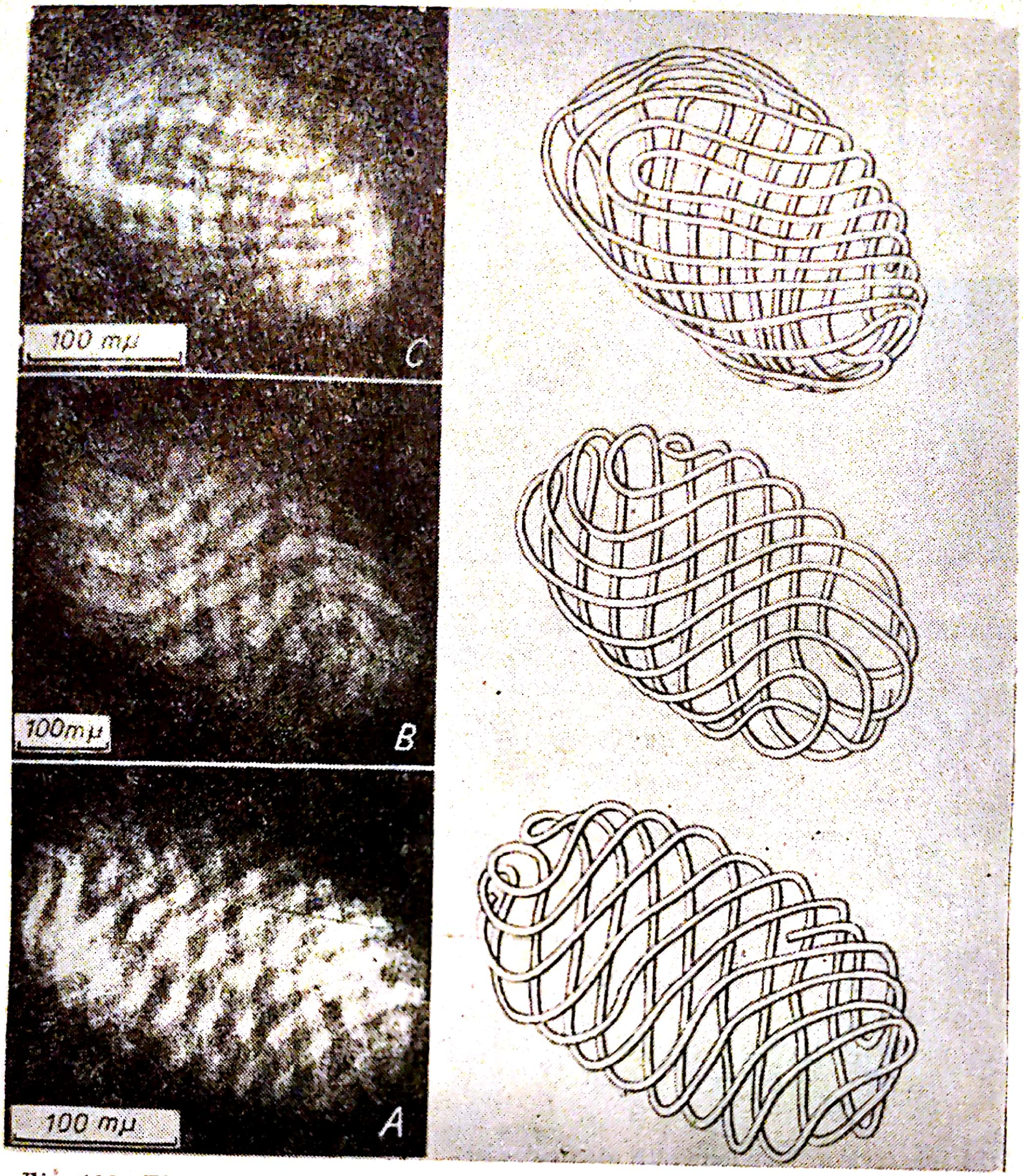


Fig. 188 : Electronomicrografii a trei particule de virus al dermatitei pustuloase (Orf sau ectima) colorate negativ cu fosfotungstat, selectate pentru evidențierea modalităților variate de aranjare a componente externe (× 300 000). (*Horne, R.W.*)

BIBLIOGRAFIE

1. BACHRACH H.L. : Reactivity of Viruses *in Vitro*, pp. 214—313, în J.L. Melnick (Ed.), *Progress in Medical Virology*, vol. 8, Karger, Basel, 1966.
2. BINGHAM R.W., ALMEIDA J.D. : Studies on the Structure of a Coronavirus — Avian Infectious Bronchitis. *J. gen. Virol.*, *36*, 3, 495—502, 1977.
3. CALLAHAN R., BENVENISTE R.E., LIEBER M.M., TODARO G.J. : Nucleic Acid Homology of Murine Type-C Viral Genes. *J. Virol.*, *14*, 6, 1394—1403, 1974.

4. COMPANS R.W., HARTER D.H., CHOPPIN P.W.: Studies on Pneumonia Virus of Mice (PMV) in Cell Culture. II. Structure and Morphogenesis of Virus Particle. *J. exp. Med.*, *126*, 267—276, 1967.

5. GEORGES J.-C., De LAVERGNE E.: Les myxovirus parainfluenzae. I. Purification, composition chimique, biochimie de la replication. *Bull. Inst. Pasteur*, Paris, *69*, 327—366, 1971.

6. HONESS R.W., WATSON D.H.: Unity and Diversity in the Herpesviruses. *J. gen. Virol.*, *37*, 1, 15—37, 1977.

7. HORZINEK M.C.: The Structure of Togaviruses. *Progr. med. Virol*, vol. *16*, 109—156, 1973.

8. JONCAS J., BERTHIAUME L., PAVILANIS V.: The Structure of the Respiratory Syncytial Virus. *Virology*, *38*, 493—496, 1969.

9. KAPLAN P.M., GREENMAN R.L., GERIN J.L., PURCELL R.H., ROBINSON W.S.: DNA-polymerase Associated with Human Hepatitis B Antigen. *J. Virol.*, *12*, 996—1005, 1973.

10. LAVER W.G.: The Polypeptides of Influenza Viruses. *Adv. Virus. Res.*, *18*, 57—103, 1973.

11. LIPMAN M.B., HIERHOLZER W.J., SCHLUEDERBERG I.: Isolation of Cores from Hepatitis B Dane Particles. *J. Infec. Dis.*, *128*, 5, 664—667, 1973.

12. MATTHEWS R.E.F.: A Classification of Virus Groups Based on the Size of the Particle in Relation to Genome Size. *J. gen. Virol.*, *27*, 2, 135—149, 1976.

13. NERMUT M.V., FRANK H.: Fine Structure of Influenza A_2 (Singapore) as Revealed by Negative Staining, Freeze-drying and Freeze-ettching. *J. Gen. Virol.*, *10*, 37—51, 1971.

14. SCHULZE I.T.: Structure of the Influenza Virion. *Adv. Virus Res.*, *18*, 1—55, 1973.

15. VYAS G.N., RAO R.K., IBRAHIM A.B.: Australia Antigen (Hepatitis B Antigen): a Conformational Antigen Dependent on Disulfide Bonds. *Science*, *178*, 1300—1301, 1972.

XXXIX. METODE DE MULTIPLICARE A VIRUSURILOR ȘI CRITERII DE EVALUARE

Virusurile sînt replicate (multiplicate) numai în celule vii.

Inoculînd bacteriofag într-o cultură bacteriană gazdă aflată în faza de creștere exponențială și continuînd incubarea, după 1—2 ore cultura se limpezește ca urmare a lizei celulelor bacteriene și liberării virionilor progeni *. Numărul virionilor într-un volum de suspensie poate fi determinat prin *tehnica „plajelor de liză" bacteriofagică:* apariția de găuri sau plaje într-o cultură bacteriană confluentă pe plăci cu geloză, generate dintr-o *unitate infectantă de virus*; se determină astfel numărul de *unități formatoare de plaje, p.f.u.*/ml.

Studiul amănunțit al multiplicării fagului în celula bacteriană gazdă (sistemul fag T_2 — E. coli) a constituit modelul de cercetare al replicării (ontogenezei) virusurilor și altor interrelații virus-celulă.

1. GAZDE DE LABORATOR

Pentru replicarea virusurilor animale se pot folosi celule vii provenind din trei surse: a) animale de laborator, b) embrioni de găină în dezvoltare (ouă embrionate) sau b) culturi de celule (v. cap. IV).

a). Prima metodă folosită a fost *inocularea la animale vii* care se îmbolnăvesc sau/și mor ca urmare a inoculării de virus.

Are numeroase limitări în ceea ce privește izolarea, cultivarea și studiul proprietăților virusurilor: receptivitate redusă la virusuri și foarte variabilă în raport de specie și linie genetică; variații mari în modul de răspuns la inocularea de virus în raport de gradul de maturare a țesuturilor și în primul rînd a țesutului imunocompetent; posedă propriile lor virusuri latente care pot contamina virusul cultivat; nu este posibilă urmărirea stadială a relațiilor virus-celulă; costul ridicat al animalelor și întreținerii lor; și altele.

Animalele de laborator se folosesc însă pentru studii patogenetice și imunogenetice, preparare de seruri imune, ca sursă în vederea culturilor de celule etc.

---

* În unele cazuri este necesară o scurtă expunere la cloroform pentru a se produce liza și liberarea fagilor progeni.

b) Un progres însemnat pentru decelarea și cultivarea anumitor grupe de virusuri (myxovirus, poxvirus etc.) a constituit folosirea *ouălor de găină embrionate* drept gazde de laborator. Sînt ușor de manipulat în laborator, sînt ieftine, oferă pentru inoculare multiple țesuturi receptive la virus (inclusiv membranele corioalantoidiană, vitelină), mecanismele de apărare nu sînt dezvoltate. Pot fi însă contaminate cu virusuri latente (oncornavirusuri, herpesvirus).

Ortho- și paramyxovirusurile au fost cercetate intensiv pe acest model experimental pe baza activității lor hemaglutinante.

Membrana corioalantoidiană a servit la titrarea poxvirusurilor prin determinarea numărului de leziuni (pox-uri) generate dintr-o unitate infectantă.

Ca și animalul viu, nu oferă condiții pentru studiul relațiilor virus-celulă.

c) Realizarea pe scară largă a **metodelor de cultivare și menținere in vitro a celulelor vii** (1949—1950) a oferit posibilități largi pentru studii cantitative privitoare la mecanismul replicării și geneticii virusurilor, diagnosticul de laborator al infecției virale, preparare de vaccinuri etc.

Numeroase tipuri diferite de celule (umane, animale; epiteliale, fibroblastice; adulte, embrionare; normale, tumorale etc.) pot fi cultivate *in vitro* ținînd seama de exigențele lor nutriționale.

Există două tipuri principale de culturi celulare (tabel 100):

(i) *culturi celulare primare,* în care țesutul sau organul de origină este dezintegrat cu o enzimă proteolitică (ex.: tripsină) și celulele detașate sînt însămînțate în mediu de creștere într-un vas în care celulele sedimentează și aderă pe sticlă, apoi încep să se dividă acoperind în cele din urmă cu un monostrat celular suprafața recipientului acoperită cu mediul de cultură; în acest stadiu sinteza DNA se reduce și diviziunile celulare încetează (*inhibiție de contact*).

(ii) *Culturi celulare secundare,* în care cultura primară este desprinsă de pe sticlă prin tripsinare ușoară sau cu un agent chelator * și reînsămînțată în mediu de cultură proaspăt; asemenea culturi rețin multe din proprietățile celulelor parentale ** și se pot subcultiva repetate ori pînă cînd, după un număr variabil de treceri (uneori cîteva zeci de pasaje), rata de creștere scade și celulele mor.

— Culturi celulare „de linie” (stabile).

Uneori, în culturile secundare, pe la trecerea 60—70 ori mai devreme, apar brusc ori se constituie lent arii de *celule transformate,* alterate morfologic și funcțional, care au pierdut inhibiția de contact și de aceea cresc dezordonat și mai repede decît celulele de origină. Din asemenea arii se izolează „linii de celule transformate”.

Transformarea celulară poate surveni „spontan” în culturi secundare ori poate fi indusă cu virusuri oncogene sau prin tratare cu substanțe chimice cancerigene.

Cultura celulară primară preparată din *țesuturi tumorale* se comportă de la început ca o linie celulară transformată (ex.: HeLa, KB).

---

* de exemplu EDTA (etilen-diamino-tetra-acetat).

** de exemplu *tulpina* de celule diploide umane WI—38 (Wistar-38), derivată din fibroblaști din pulmon de embrion uman, păstrează un timp caracterele țesutului de origină.

Tabelul 100

Substrate celulare „in vitro” folosite mai frecvent în diagnosticul virusologic

Denumirea substratului	Originea		Caracteristici		Autori
	specia	țesutul	de multiplicare	aspect morfologic	
HeLa	om	carcinom col uterin	linie tumorală stabilizată	epitelial	Gey și colab. 1952
KB	om	carcinom bucal	linie tumorală stabilizată	epitelial	Eagle, 1955
HEp-2	om	carcinom laringean	linie tumorală stabilizată	epitelial	Moose și colab. 1955
Detroit-6	om	metastază carcinom pulmonar	linie tumorală stabilizată	epitelial	Berman și colab. 1955
L-132	om	plămîn embrionar	linie stabilizată	epitelial	Davis și colab. 1960
WI-38 *	om	plămîn embrionar	tulpină diploidă	fibroblastic	Hayflick, 1961
MRC-5 *	om	plămîn embrionar	tulpină diploidă	fibroblastic	Jacobs și colab. 1970
BSC-1	maimuță Cercopiteccus aethiops	rinichi adult	linie stabilizată	epitelial	Hopps, 1963
VERO	maimuță Cercopiteccus aethiops	rinichi adult	linie stabilizată	epitelial	Jasumura și colab., 1963
ICRM-23	maimuță rhesus	rinichi adult	linie stabilizată	epitelial	N. Gaicu, 1974 (Institutul Cantacuzino)
BHK-21	hamster nou-născut	rinichi	linie stabilizată cvasi-diploidă	fibroblastic	Macpherson și Stoker, 1962
PK (15)	porc (Sus scrofa)	rinichi	linie stabilizată	epitelial	Stice, 1955
3 T 3	șoarece Swiss albino	embrion total	tulpină diploidă	fibroblastic	Todaro și Green, 1963
Swiss-12	șoarece Swiss albino	embrion total	linie stabilizată	fibroblastic	C. Voiculescu (Institutul Cantacuzino)

(După. C. *Voiculescu*, 1976).

---

* Tulpini de celule folosite ca substrat pentru preparare de vaccinuri virale de uz uman. Stocul (conservat în azot lichid, la −195,8°C) a fost constituit la trecerea 8–9-a de la izolare și poate fi folosit pentru prepararea de vaccin pînă la maximum trecerea a 13–15-a (după care poate interveni instabilitatea genetică, modificări de cariotip). În 1975, tulpina WI-38 a fost retrasă deoarece peste 80% din fiolele cu „sămînța” de celule au fost găsite contaminate cu Micrococcus varians. În prezent a fost înlocuită cu tulpina MRC-5.

— Culturile de organ sînt altă metodă de menținere a celulelor vii în laborator în vederea izolării și studiului unor virusuri și constau în plasarea de fragmente mici de organ (trahee, bronșii, intestin subțire proximal) în mediu de cultură care permite continuarea activităților celulare în condițiile similare celor din organism și observarea directă la microscop (ex. : mișcarea ritmică a cililor și modificarea acesteia ca urmare a infecției virale).

Grupe recent descoperite de virusuri respiratorii (coronavirus) și enterice (rotavirus) beneficiază de studiul pe culturi de organ.

2. MODIFICĂRI PRODUSE DE VIRUSURI ÎN CULTURI DE CELULE

Multiplicarea virusului în monostratul de celule constituit prin cultivare pe peretele vasului (eprubetă, flacon plat, cutie Petri), induce modificări relativ ușor de observat cu obiectivul mic al microscopului optic.

(i) *Efect citopatic,* rezultat din degenerarea celulelor și constînd din *rotunjirea,* necroza ori balonizarea celulelor care devin refringente sau din *fuzionarea* celulelor cu formare de mase sincițiale multinucleate. Treptat, celulele se detașează de pe suport într-un interval variind de la cîteva ore la cîteva săptămîni. Asemenea culturi infectate după fixare, colorare și secționare, pot fi examinate pentru prezența de modificări microscopice (incluzii, arii de acumulare de virioni etc.).

(ii) *Inhibiția metabolismului celular* este un fenomen precoce în infecția cu unele virusuri (ex. : enterovirus) ceea ce devine ușor vizibil în prezența unui indicator de *p*H prin aceea că nu mai are loc acidifierea mediului.

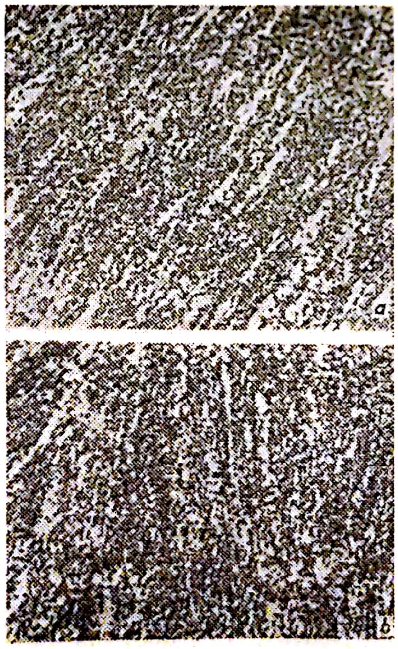


Fig. 189 : Hemadsorbție :

celule WI–38 infectate cu virus rujeolic (*sus*) și cu virusul bolii din Newcastle (*jos*) (× 150). (*Kleinman, M.B.* și *Carver, D.H.*)

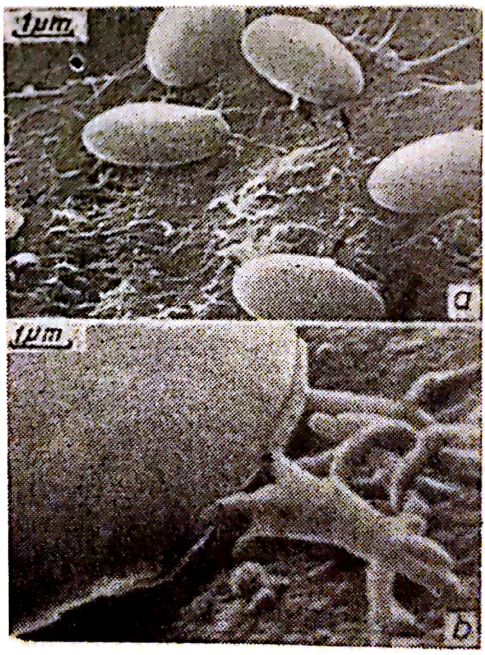


Fig. 190 : Hemadsorbția la electronomicroscopul de baleiaj.

a : Celulă HeLa, după 72 ore de la infecție cu virusul parotiditei epidemice, atașează eritrocite prin intermediul unor mici proiecții citoplasmice (săgeți) ;
b : Zona de atașare mult mărită. (*Mannweiler, K.* și *Rutter, G.*)

(iii) *Apariția de hemaglutinine virale* liberate în lichidul de cultură ca urmare a multiplicării virusului și decelate prin reacția de aglutinare a hematiilor.

(iv) Apariția *hemadsorbției* adică a capacității celulelor infectate cu unele virusuri de a fixa hematii ca urmare a modificărilor specifice precoce induse în membrane de infecția virală sau de maturarea virusului (fig. 189 și 190).

Hemadsorbția precede apariția efectului citopatic și a hemaglutinării, și, în unele cazuri, este singura expresie a infecției virale.

(v) *Interferența virală* este o metodă indirectă de decelare a infecției celulare cu un virus, de regulă necitopatogen (ex. : virus rubeolic) prin suprainfectarea celulelor cu un virus citopatogen cunoscut, numit virus indicator sau ,,de probă'' (ex. : virus echo). Prezența primului virus interferează (anulează) infecția cu virusul indicator prin procese care au loc la membrana celulei sau, mai frecvent, la un nivel intracelular de replicare.

(vi) *Modificările antigenice* induse de replicarea virusului, adică apariția de proteine structurale virale, pot fi evidențiate prin variate reacții antigen-anticorp (imunoprecipitare, imunoelectroforeză, fixare de complement) folosind seruri imune specifice, eventual marcate cu fluorocromi, enzime[*], radionuclide.

(vii) *Autoradiografia* poate localiza sediile intracelulare de sinteză a acizilor nucleici virali sau a proteinelor virale dacă în mediul de cultură de celule se introduc precursori marcați radioactiv (ex. : timidină tritiată pentru decelarea sintezei DNA).

(viii) *Microscopia electronică,* în varianta examinării de secțiuni ultrafine colorate ,,negativ'' și în condițiile studiului dinamic al multiplicării, furnizează date foarte prețioase cu privire la fazele replicării intracelulare.

(ix) *Transformarea morfologică* a celulelor infectate cu oncornavirusuri (ex. : virusul sarcomului Rous) sau alte virusuri oncogene (ex. : SV40) constă în modificări caracteristice (pierderea inhibiției de contact etc.) transmisibile descendenților (se pot izola linii celulare stabil transformate), apariția de antigene noi (în celulă și în membrană) etc.

(x) *Testări cantitative.* Numărul de particule virale infectante prezente la un moment dat într-o suspensie (ex. : lichid de cultură de celule) poate fi determinat prin două categorii de tehnici :

— Tehnica numărării plajelor de liză produse în cultura celulară, metodă care permite stabilirea numărului de unități infectante[**] pe volum de suspensie (p.f.u./ml). Volume măsurate din diluții crescînde de suspensie virală se însămînțează în cutii Petri pe film celular după ce în prealabil mediul de creștere a fost îndepărtat. După 1—4 ore de contact, eventual cu balansare, se spală și se acoperă cu mediu gelificat.

---

[*] ELISA (enzyme-linked immuno-sorbent assay) reprezintă o clasă de tehnici foarte sensibile de a repera apariția de antigene virale specifice folosind anticorpi marcați cu peroxidază sau alte enzime.

[**] Cu excepția fagului T_2, o unitate p.f.u. corespunde la un număr variabil de virioni în raport cu virusul sau tulpina de virus. Sedimentarea prin ultracentrifugare a particulelor de virus din suspensie, colorarea ,,negativă'' și numărarea lor la microscopul electronic permite stabilirea numărului de virioni pe unitatea p.f.u. și chiar diferențierea virionilor maturi infectanți (miezul este plin, ocupat de acid nucleic) de virionii incompleți neinfectanți (capside goale).

Tabelul 101

Calcularea DL 50 după metoda Reed-Muench

A. Inocularea la grupe de 8 animale a diluții decimale crescînde de virus a dat următoarele rezultate:

Diluția de virus	Număr decedați *	Număr supraviețuitori*	Rata mortalității
10^{-1}	8 ↑	0	8/8
10^{-2}	8	0	8/8
10^{-3}	7	1	7/8
10^{-4}	2	6	2/8
10^{-5}	0	8 ↓	0/8

B. Se calculează *valorile cumulate* pentru fiecare diluție adunînd cifrele pentru decese și separat pentru supraviețuiri după sensul indicat prin săgeți *

Diluția de virus	Decese	Supraviețuiri	Mortalitate	
			Rata	%
10^{-1}	25	0	25/25	100
10^{-2}	17	0	17/17	100
10^{-3}	9	1	9/10	90
10^{-4}	2	7	2/9	22
10^{-5}	0	15	0/15	0

C. Titrul 50% se plasează între diluțiile 10^{-3} și 10^{-4} la o distanță proporțională de diluția inferioară care se calculează după formula:

$$\frac{\%\ \text{mortalitate peste } 50-50\%}{\%\ \text{mortalitate peste } 50\% - \%\ \text{mortalitate sub } 50\%} = \frac{90-50}{90-22} = \frac{40}{68} = 0.6$$

Logaritmul negativ al titrului DL 50 = 3.0 + 0.6 = 3.6
Titrul DL 50 = $10^{-3.6}$ (1 : 6000)

II. Calcularea DL 50 după metoda Kaerber

Se utilizează formula:

$$\text{Log DL } 50 = 0{,}5 + \text{log celei mai mari concentrații de virus folosită} - \frac{\text{suma } \%\ \text{animale moarte}}{100}$$

În același exemplu

$$\text{Log titrul DL } 50 = 0{,}5 + (-1.0) - \frac{100 + 100 + 88 + 25}{100} =$$

Log titrul DL 50 = 0,5 − 1.0 − 3.1
Log titrul DL 50 = − 3.6
Titrul DL 50 = $10^{-3.6}$

Aceleași metode de calcul se folosesc pentru calcularea DI 50 și TCID 50.

---

* Raționament: dacă la diluția 10^{-4} au decedat două animale atunci cel puțin tot acestea ar fi decedat dacă erau inoculate cu diluția mai concentrată, 10^{-3}; invers, pentru supraviețuiri.

Virusul adsorbit va iniția infecția celulară litică, ducînd la apariția de plaje. Numărul de plaje depinde de numărul de p.f.u./ml.

— Titrarea virusului infectant. Volume măsurate din diluții crescînde de virus se inoculează la un număr identic de animale sau tuburi cu culturi de celule avînd receptivitate uniformă la virusul testat. După perioada de incubație cuvenită, animalele sau culturile sînt examinate și se notează acele care prezintă semnele caracteristice de boală (deces) sau efect citopatic. Prin calcule matematice, efectuate după *metoda Reed-Muench* sau după *metoda Kaerber* (vezi tabel 101) se determină numărul de DI 50 * (doza infectantă 50%), DL 50 * (doza letală pentru 50% animale) sau TCID 50 * (doza infectantă pentru 50% culturi de celule) pe volum în suspensia originală.

Studiile dinamice cantitative privind biosinteza virusurilor în culturi celulare, de patogenie a virozelor, reacțiile serologice cantitative (ex. : teste cantitative de neutralizare a virusului), stabilirea valorii antigenice și imunogene a vaccinurilor etc. se bazează pe cunoașterea concentrației în virus sau antigen a preparatelor (de ex. : numărul de TCID 50 care revin pentru fiecare celulă în experimentul pe culturi celulare, numărul de DL 50 inoculate în experimentul pe animale etc.).

Tehnica numărării plajelor de liză este mai reproductibilă decît titrarea virusului pe animale și chiar titrarea pe culturi celulare, acestea din urmă fiind influențate de numeroși factori între care susceptibilitatea gazdei, calea de inoculare, doza, vîrsta animalului, stabilitatea virusului etc.

BIBLIOGRAFIE

1. ADA G.L., JACKSON D.C., BLANDEN R.V., THA HLA R., BOWERN N.A. : Changes in the Surface of Virus-infected Cells Recognized by Cytotoxic T Cells. *Scand. J. Immunol.*, *5*, 23—30, 1976.
2. BALDUZZI P.C. : Mechanism of Oncogenic Transformation by Rous Sarcoma Virus. *J. Virol.*, *12*, 2, 284—290, 1973.
3. BARKER L.F., CHISARI F.V., McGRATH P.P. et all. : Transmission of Type B Viral Hepatitis to Chimpanzees. *J. Infect. Dis.*, *127*, 648—662, 1973.
4. BIGGS P.M. : Production of Pathogen Free Avian Cell Substrate for Production of Vaccines. *Labor. Pract.*, *19*, 1, 45—49, 1970.
5. DEINHARDT F., HOLMES A.W., CAPPS R.B. : Studies on the Transmission of Human Viral Hepatitis to Marmoset Monkyes. *J. exp. Med.*, *125*, 673—688, 1967.
6. GERBER M.A., HADZIYANIS S., VISSOULIS C., SCHAFFNER F., PARONETTO F., POPPER H. : Hepatitis B Antigen : Nature and Distribution of Cytoplasmic Antigen in Hepatocytes of Carriers. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, *145*, 3, 863, 1974.

---

* DI 50, DL 50 și TCID 50 corespund la cea mai mare diluție de virus care determină boala, decesul ori, respectiv, efect citopatic la 50% din animalele, ouă embrionate ori culturile de celule inoculate.

7. HSU S.H., SCHACTER B.Z., DELANEY N.L., MILLER T.B., Mc KUSICK V.A. KENNETT R.H., BODMER J.G., YOUNG D., BODMER W.F. : Genetic Characteristics of the HeLa Cells. *Science*, *191*, 392—394, 1976.

8. JOSEPH B.S., PERRIN L.H., OLDSTONE M.B.A. : Measurement of Virus Antigens on the Surfaces of HeLa Cells Persistently Infected with Wild Type and Vaccine Strains of Measles Virus by Radioimmune Assay. *J. gen. Virol.*, *30*, 329—337, 1976.

9. MADRID A.T. De., PORTERFIELD J.S. : A Simple Micro-culture Method for the Study of Group B Arboviruses. *Bull. Wld Hlth Org.*, *40*, 113—131, 1969.

10. MANNWEILER K., RUTTER G. : High Resolution Investigation with the Scanning and Transmission Electron Microscope of Haemadsorbtion Binding Sites of Mumps Virus-infected HeLa Cells. *J. gen. Virol.*, *28*, 99—109, 1975.

11. MARTIN E.M. : Replication of Small RNA Viruses. *Brit. med. Bull.*, *23*, 2, 192, 1967.

12. MAYOR H.D., JORDAN L.E.. The Replication of Rodent Parvovirus X 14. *J. gen. Virol.*, *30*, 3, 337—346, 1976.

13. MOORHEAD P.S., NICHOLLS W.W., PERKINS F.T., HAYFLICK L. : Standards of Karyology for Human Diploid Cells. *J. Biol. Standardization*, 2, 2, 95—101, 1974.

14. NACHTIGAL M. : Virusul Simian 40, un model molecular de oncogeneză virală, pp. 95—147, în *Progrese în Biologia Moleculară*, Edit. Scrisul românesc, Craiova, 1975.

15. NOBORU H. : Electron Microscopy of Viruses in Thin Sections of Cells Grown in Culture. *Progr. med. Virol.*, *15*, 331—379, Karger, Basel, 1973.

16. SIMON Z. : Celule normale și maligne — reglaj și modele matematice, pp. 149—172, în *Progrese în Biologia Moleculară*, Edit. Scrisul românesc, Craiova, 1975.

17. SMITH K.O. : Adventitious Viruses in Cell Cultures. *Progr. med. Virol.*, *12*, 302—336, 1977.

18. STRAND M., AUGUST J.T. : Type-C RNA Virus Gene Expression in Human Tissue. *J. Virol.*, *14*, 1584—1596, 1974.

19. VOICULESCU C. : *Cultura celulară în diagnosticul virozelor umane*. Edit. medicală, București, 1976.

20. WADE N. : Vaccine Cells (WI—38) Found Mostly Contaminated. *Science*, *194*, 41, 1976.

21. WILDY P., WATSON D.H., SHEDDEN W.I.H. : Non-Structural Proteins of Viruses of Vertebrates. *Brit. med. Bull.*, *23*, 2, 769, 1967.

22. YAMANOUCHI K., CHINO F., KOBUNE F., KODAMA H., TSURUHARA T. : Growth of Measles Virus in the Lymphoid Tissues of Monkeys. *J. Infect. Dis.*, *128*, 6, 795—799, 1973.

23. ZUCKERMAN A.J., BAINES P.M., ALMEIDA J.D. : Australia Antigen as a Marker of Propagation of the Serum Hepatitis Virus in Liver Cultures. *Nature*, *236*, 78—81, 1972.

XL. MULTIPLICAREA VIRUSURILOR

Multiplicarea virusurilor este executată în celula gazdă prin trei procese esențiale, comune tuturor virusurilor :

— replicarea genomului: confecționare de genome progeni;
— transcripția: producția de RNA mesager (mRNA);
— translația acestor mesaje în polipeptide.

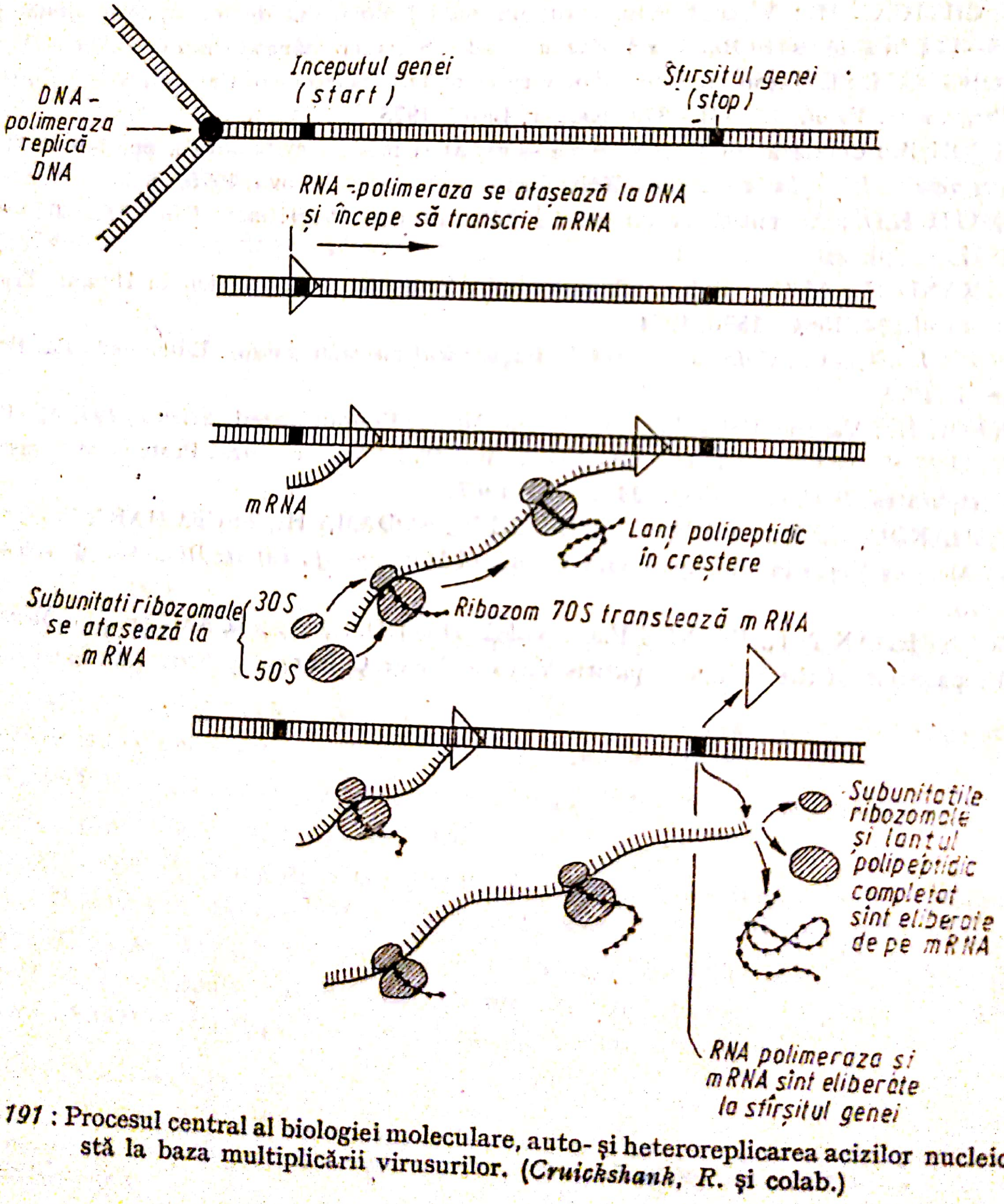

DNA-polimeraza replică DNA
Inceputul genei (start)
Sfîrsitul genei (stop)
RNA-polimeraza se atașează la DNA și începe să transcrie mRNA
mRNA
Lanț polipeptidic în creștere
Subunitati ribozomale se atașează la mRNA
30 S
50 S
Ribozom 70 S translează mRNA
Subunitatile ribozomale și lanțul polipeptidic completat sînt eliberate de pe mRNA
RNA polimeraza și mRNA sînt eliberate la sfîrșitul genei

Fig. 191 : Procesul central al biologiei moleculare, auto- și heteroreplicarea acizilor nucleici, stă la baza multiplicării virusurilor. (*Cruickshank, R.* și colab.)

Mecanismele prin care virusurile transferă celulei gazdă informația codificată în genom variază în primul rînd în raport cu *sediul* celular unde are loc replicarea și transcripția. Mesajele virale de tip mRNA (mono- sau policistronice), care pot fi deci sintetizate *în citoplasma* gazdei, acționează direct ca tipare pentru sinteza polipeptidelor deoarece în citoplasma celulei gazdă nu există vreun mecanism pentru construirea de mRNA. Pe de altă parte, mesajele virale policistronice produse *în nucleu* în general nu sînt adecvate pentru sinteza polipeptidelor de aceea moleculele de mRNA mari sînt clivate în vederea translației înainte de a fi transportate în citoplasmă. Oncornavirusurile au un mecanism cu totul diferit, întîlnit numai la membrii familiei Retroviridae.

În plus, alte caracteristici contribuie la diversificarea virusurilor : tipul de acid nucleic prezent în virion, cantitatea de informație genetică și modul de maturare și eliberare din celulă.

Produsele finale ale replicării virale sînt : (i) *genome noi* și (ii) *polipeptide** structurale (capside, enzime) și ne-structurale, funcționale (molecule cu rol regulator, enzime):

Există *trei categorii de interrelații virus-celulă* în ceea ce privește modalitatea în care se realizează multiplicarea virusurilor :

(i) *Ciclul litic, citocid, productiv.*

Informația genetică liberată din virion în celulă este completă și este transcrisă și translată integral, proces care se soldează în final cu moartea celulei și liberare de virioni, complet structurați, încapsidați, maturi, infectanți. Tulpinile de virus care sînt la originea ciclului productiv citocid sînt etichetate drept tulpini virulente („standard"sau „sălbatece") și se caracterizează prin capacitatea de transmisie orizontală (infecția începe prin atașarea virionului la membrana celulei intacte). Pe plan clinic, de regulă se exprimă prin boala acută, clasică.

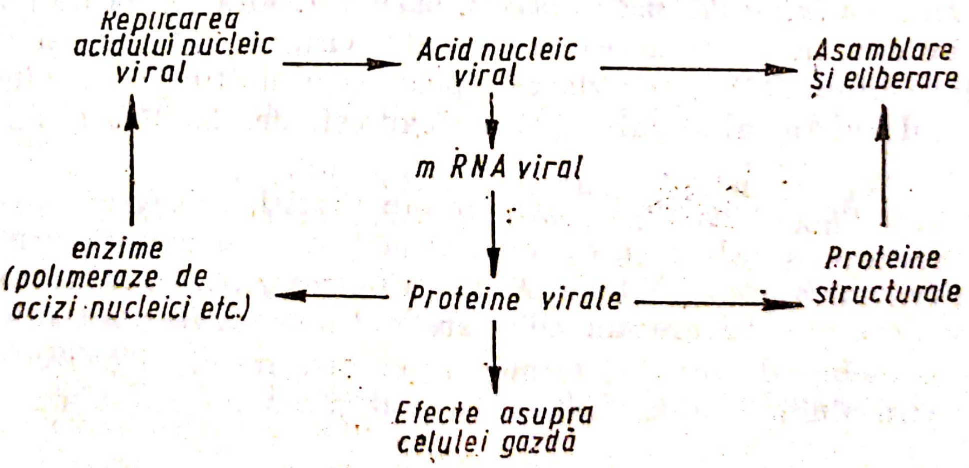

Replicarea acidului nucleic viral
Acid nucleic viral
Asamblare și eliberare
m RNA viral
enzime (polimeraze de acizi nucleici etc.)
Proteine virale
Proteine structurale
Efecte asupra celulei gazdă

Fig. 192 : Diagrama evenimentelor în cursul replicării unui virus. (*Cruickshank, R.* și colab.)

---

* Oricare polipeptid codificat de virus poate fi antigen (e), fie că este structural sau nestructural, și să joace un rol important în răspunsul imun al gazdei la infecția virală.

(ii) *Infecţia persistentă, endosimbiotică, ne-citocidă, cronică-ciclică.* Corespunde unui nivel diferit de homeostazie manifestat prin aceea că celula infectată supravieţuieşte timp îndelungat producînd, în mod continuu sau intermitent virus complet, virioni maturi (*infecţie productivă* : genom viral exprimat integral) sau numai unele componente virale, capside, acid nucleic (*infecţie abortivă* : genom viral parţial exprimat). În infecţia abortivă se sintetizează componente virale care nu se asamblează ori se produc virioni neinfectanţi probabil datorită absenţei unui component esenţial sau este greşit. O clasă specială de infecţii abortive este dată de *virus defectiv genetic* şi care poate fi „salvat" (maturat) de suprainfecţia celulei cu virus complet, *helper* (vezi cap. XLI). Asemenea mod de infecţie cronică persistentă, poate fi determinat atît de caracteristici ale speciei (ex. : virusuri „lente") sau ale tulpinii de virus (mutanţi defectivi) cît şi ale gazdei (celule nepermisive).

Prezenţa în inocul a particule de *virus defectiv interferent* (*mutanţi DI*) este un factor deosebit de important pentru instituirea stării de persistenţă.

Celulele persistent infectate *se pot transforma*, în primul rînd şi cel puţin, prin apariţia de polipeptide virale exprimate pe membrană şi devin astfel „ţinte" pentru procesele imunitare şi neimunitare ale gazdei.

Majoritatea virusurilor, în afară de infecţii acute, litice (cel mai bine studiate datorită expresiei clinice clasice) realizează şi infecţii cronice persistente, în condiţii naturale sau experimentale. Expresia clinică a infecţiilor virale persistente, mult mai frecvente decît se presupune (ex. : encefalopatii spongiforme ; hepatită virală cronică ; leucemii etc.) este abia la început de studiu * pentru că metodele actuale uzuale de diagnostic sînt încă numai acele clasice, adresate aproape exclusiv infecţiei virale productive de tip acut, citolitic, cu virus încapsidat transmis orizontal. Decelarea infecţiei persistente devine posibilă folosind tehnici speciale ca de ex. : cultivare prelungită *in vitro* a fragmente de organ, ca atare sau sub formă de cultură primară de celule, eventual şi prin cocultivarea sau fuzionarea lor cu celule permisive **.

(iii) *Infecţia integrată, neproductivă, latentă.* O altă formă de infecţie virală endosimbiotică este aceea în care atît virusuri DNA cît şi RNA sînt transcrise în *cópii DNA*, *provirus* care poate coexista timp foarte îndelungat cu genomul funcţional al gazdei, fără o expresie decelabilă a genelor virale (genom viral represat).

Existenţa de genom viral, complet sau parţial, sub formă de secvenţe DNA proviral integrate în genom gazdă, a fost demonstrată prin tehnici speciale de *hibridizare cRNA/DNA* sau prin *transfecţie de DNA* în celulele permisive (prin cocultivare sau cultivare îndelungată *in vitro* ***).

Spre deosebire de *infecţie*, termen rezervat transmisiei orizontale, din afară, a virusului încapsidat, infectant, *transfecţia* înseamnă transmiterea la o celulă nouă a forme intermediare replicative de acizi nucleici virali sau de provirus (DNA). Provirusul și eventual forme replicative pot fi *transmise vertical,* prin genom gazdă pentru provirus sau ca episomi pentru forme intermediare replicative, la descendenții celulei latent infectată.

---

* Descrieri clinice de asemenea sindroame se află în tratate de neurologie, hematologie, oncologie, medicină internă, psihiatrie (ex. : „demenţa virală transmisibilă" sau boala Creutzfeldt-Jakob) etc.

** Celule capabile să suporte infecţia litică, productivă (să exprime integral genomul viral).

*** Unele „molecule informaţionale" identificate în acest fel în celule latent infectate, sînt încă „în căutare de maladii".

În infecțiile endosimbiotice transmisia verticală poate să alterneze cu transmisia orizontală dacă intervine maturarea și liberarea virionilor.

În timp, celulele (clonele celulare) latent infectate se pot *transforma* prin expresia (derepresia) parțială a genomului viral *.

Infecția endosimbiotică (fie cronică-ciclică, fie latentă-integrată) trebuie diferențiată de *starea de purtător* a unui organism animal sau culturi celulare și care este tot o stare persistentă bazată însă pe *infecția unui număr redus de celule* (1% sau și mai puțin) în care are loc un *ciclu productiv,* de obicei litic, iar virusul matur liberat infectează orizontal doar puține alte celule. Această *reinfecție limitată continuă* care are loc în intimitatea unui organ sau țesut ține seama de condiții speciale de cultivare cum sînt : a) rezistența parțială a celulei la infecție, b) prezența în mediu de agenți antivirali (anticorp, interferon), c) transmisie directă de la celulă la celulă fără eliberare de virus în mediu. Dacă reinfecția limitată este interferată (de ex. cu adaus de anticorp antiviral de mare afinitate) starea de purtător „se vindecă".

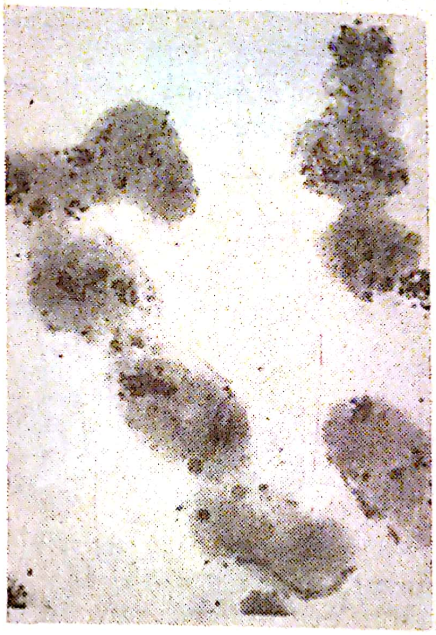


Fig. 193 : Citohibridizare *in situ* cu cRNA pentru decelarea DNA al virusului citomegalic în celule WI—38 infectate.

Autoradiografie la 32 ore după infecție (× 1 000). (*Pagano, J.S.* și *Huang, E.S.*)

A. CICLUL LITIC, CITOCID

Modelul de studiu al *aspectelor cantitative* ale ciclului de replicare citocid realizat pentru sistemul fag-bacterie a fost ulterior extins la alte sisteme virus-gazdă.

Se denumește „curba multiplicării sincronizate" („*one-step growth curve*") expresia grafică obținută prin măsurarea numărului de virioni realizat fazic într-un singur ciclu de infecție. Pentru a se obține această curbă, toate celulele trebuie să fie simultan infectate cu virus, cu un număr echilibrat de unități infectante per celulă, iar cultura să fie testată repetat pentru conținutul în virus matur.

Durata ciclului litic variază de la 30 minute pentru bacteriofag pînă la 5—20 ore pentru virusuri animale.

Există 2 forme de curbe pentru un același sistem virus-gazdă, după cum proba supusă testării este sau nu lizată artificial.

---

* Noțiunile de latență, persistență și oncogenitate sînt procese biochimice și genetice strîns înrudite și își găsesc expresia fenomenologică în interacțiunea virus-celulă.

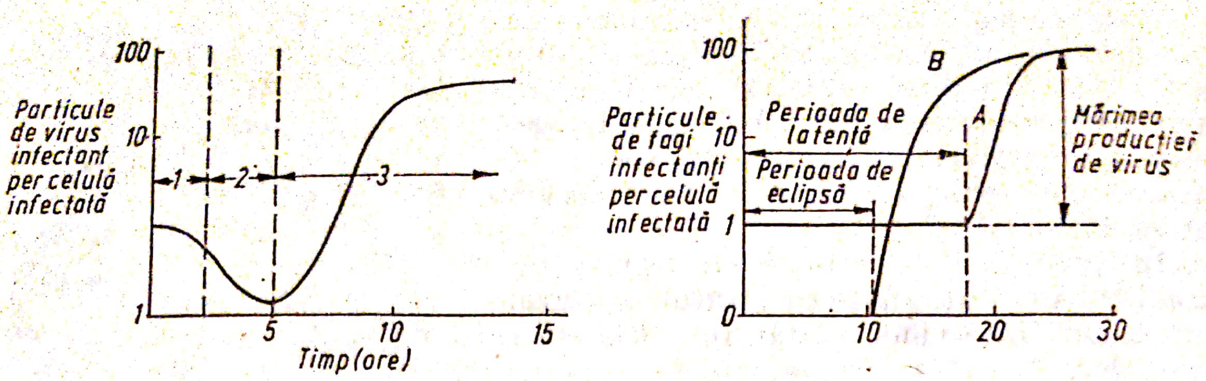


Fig. 194 : Diagrame reprezentînd curba de multiplicare a unui virus.

Stînga : Titrarea virusului infectant în probe recoltate la intervale diferite evidențiază trei stadii : *1*, adsorbția și penetrarea, *2*, eclipsa și *3*, maturarea și eliberarea.
Dreapta : Curba multiplicării unui bacteriofag fără (*A*) și cu (*B*) liză artificială a celulelor infectate. (*Cruickshank, R.* și colab)

a) **Curba cu liză artificială.** În condițiile liberării tuturor virionilor (virus matur, infectant) prin dezintegrarea artificială (ultrasonare) a celulelor gazdă se obține o curbă care prezintă 3 stadii (fig. 194) :

— stadiul 1 : adsorbția și penetrarea în celulă a virionilor (sau acidului nucleic viral) ; cantitatea de virioni scade treptat pe măsura decapsidării lor și liberării acidului nucleic ;

— stadiul 2 : perioada de „eclipsă" în care nu se decelează virioni deoarece în celulă există doar acid nucleic viral funcțional și care, în lizatele celulare, este degradat de nucleaze ; în celula intactă se desfășoară sinteze de enzime virale, acid nucleic viral și proteine structurale virale * ;

— stadiul 3 : în care are loc asamblarea virionilor din componentele sintetizate în faza anterioară și numărul crește rapid pînă cînd se produce liza celulei și liberarea virionilor maturi progeni.

b) **Curba cu liză spontană.** Are o alură diferită (fig. 194) prin aceea că nu apar diferențe între stadiile 1 și 2, fapt care ține de aceea că atît celulele din stadiul 1 care au atașat virus cît și celulele infectate cu virus aflate în stadiul 2 faza de eclipsă (și care nefiind lizate) se vor comporta la fel în titrare generînd fiecare cîte o singură plajă de liză.

În stadiul 3, datorită creșterii rapide a numărului de virioni și lizei spontane, curba crește rapid pînă la un nivel echivalent curbei obținute cu liză artificială.

Intervalul scurs de la inoculare și pînă la creșterea bruscă în virus extracelular este numit *perioada de latență*.

Perioada de latență, în condiții optime, este de 10—15 minute pentru bacteriofagi, 3 ore la unele picornavirusuri, 5 ore la herpesvirus și poxvirus, 10 ore la oncornavirus, 15 ore la adenovirus și 20 ore la papovavirus.

Producția finală („*burst-size*") obținută în culturi sincronizate este *un același număr de virioni per celulă* și se exprimă prin raportul între titrul final al virusului și numărul de celule infectate, valoarea fiind caracteristică pentru fiecare sistem virus-gazdă.

---

* Separînd în acest stadiu forme replicative intermediare (ex. : molecule născînde de cRNA viral asociate matriței) în condiții de protejare față de nucleaze și introducîndu-le într-o celulă nouă (după permeabilizarea membranei prin tratare cu dextran sau calciu) se poate realiza *transfecția*, adică continuarea ciclului în noua gazdă.

1. STADIILE REPLICĂRII VIRUSURILOR

Procesele fazice care se succed în cursul replicării intracelulare a virusurilor citocide pot fi separate în 3 mari episoade care se deosebesc prin natura mecanismelor care stau la baza lor şi prin produsul obţinut :

a) **Conversia virionului în acid nucleic infectant.**

(i) *Adsorbţia.* Coliziunea întîmplătoare intre virioni şi celulă, care depinde de concentraţiile relative ale virusurilor şi celulelor, este urmată de adsorbţia virusului pe suprafaţa celulei. Compoziţia ionică a mediului şi în primul rînd

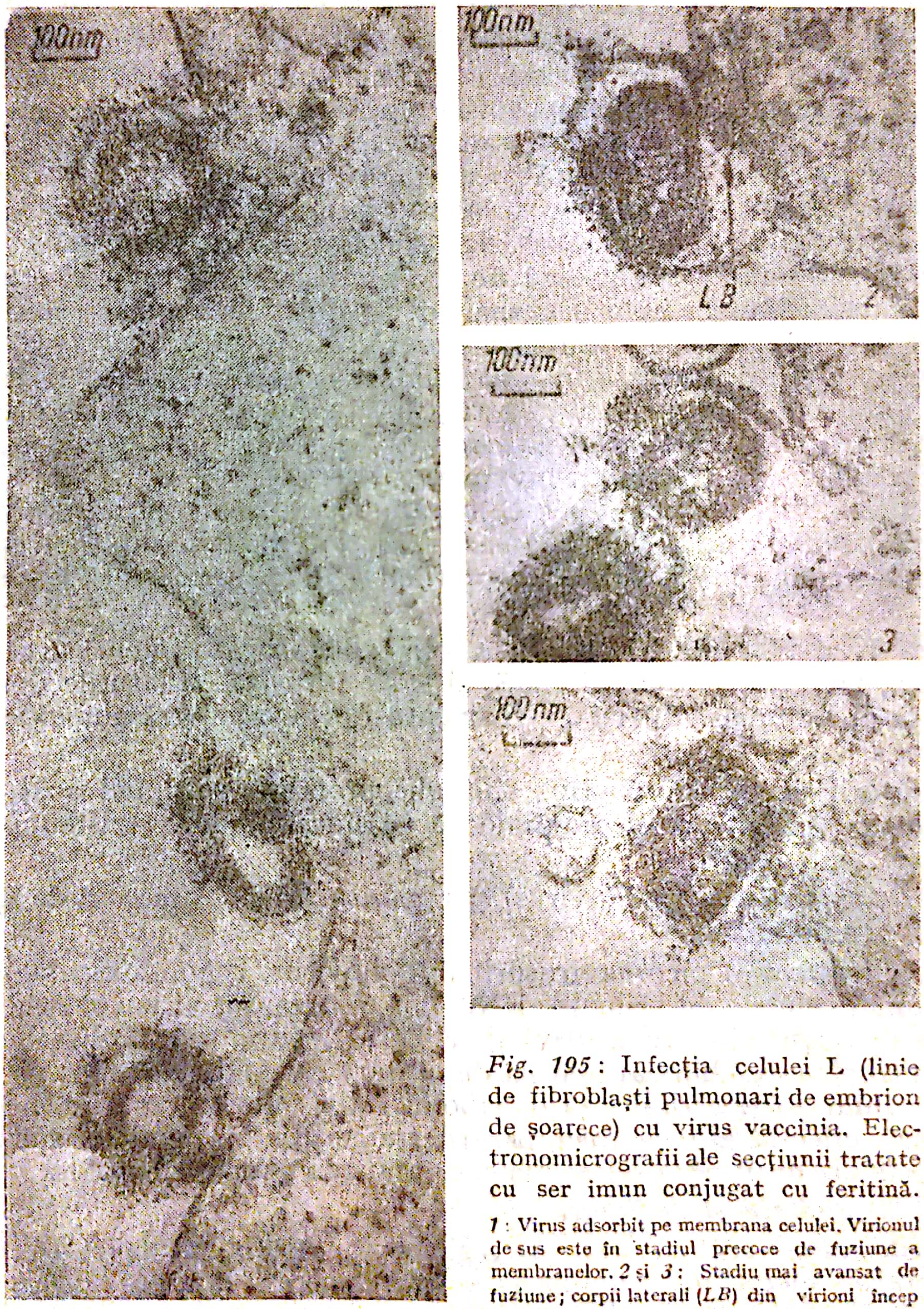


Fig. 195 : Infecţia celulei L (linie de fibroblaşti pulmonari de embrion de şoarece) cu virus vaccinia. Electronomicrografii ale secţiunii tratate cu ser imun conjugat cu feritină.

1 : Virus adsorbit pe membrana celulei. Virionul de sus este în stadiul precoce de fuziune a membranelor. *2* şi *3* : Stadiu mai avansat de fuziune; corpii laterali (*LB*) din virioni încep să se disperseze. *4* : Virus vaccinia încorporat în celulă (vezi fig. 196). (*Chang, A.* şi *Metz* (*D.H.*)

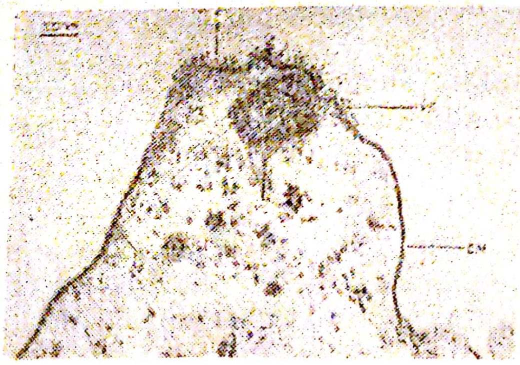


Fig. 196: Stadiu avansat al infecției celulei cu virus vaccinia:
după fuziune, miezul virionului (*VC*) migrează în citoplasmă iar învelișul viral (*VE*) marcat cu feritină (*F*) rămîne inserat în membrana celulară (*CM*). (*Chang, A.* și *Metz, D.H.*)

concentrația de cationi influențează adsorbția. Atașarea virusului depinde de interacțiunea grupărilor sterice complementare prezente pe cele două suprafețe. Prezența pe membrana gazdă a *sedii receptor specifice* pentru virus este o primă condiție. Pentru atașare, unele virusuri necesită prezența de *cofactori*. Astfel, fagul T_4 necesită prezența a 6 molecule de triptofan pentru fiecare virion înainte ca fibrele cozii să se destindă și să se fixeze pe receptorii specifici de pe peretele Escherichiei coli.

Virusurile animale se atașează de receptorii specifici celulari prin componente capsidice (ex.: fibra pentonei adenovirusului) sau prin proiecții din învelișul viral (ex.: hemaglutinina myxovirusului).

Adsorbția, și prin aceasta infecția celulei susceptibile, poate fi împiedicată de anticorpul specific față de structura de suprafață prin care se realizează atașarea (ex.: anticorpul față de fibra cozii fagului T_4, fibra pentonei adenovirusului, hemaglutinina myxovirusului etc.).

Modificări mici în compoziția chimică a receptorului (prin mutații) pot induce rezistența celulei la infecție. O infecție virală în curs (ex. infecția latentă) determină modificarea receptorilor și induce rezistență la suprainfecție.

Fagul T_5 al *E. coli* se atașează la o lipopolizaharid-proteină a peretelui bacterian; fagii mici icosaedrici MS_2 și f_2 se atașează pe laturile fimbriilor (F-pili) de E. coli mascul iar fagii filamentoși F_1 se atașează numai la vîrful fimbriilor.

Receptorii pentru myxovirus sînt glicoproteine conținînd acid neuraminic; distrugerea lor cu neuraminidază (sialidază) induce rezistența celulei la infecție.

Enterovirusurile (ex. poliovirus) și togavirusurile se atașează de lipoproteine din membrană.

Virionul *intact* al picornavirusurilor (poliovirus, echo, coxsackie) infectează numai celulele de primate. RNA pur, extras din virion transfectează (pentru un singur ciclu replicativ) și celule de iepure, porc, cobai, hamster, găină, întrucît este eliminată etapa de atașare specifică la receptori. Protejarea acidului nucleic viral față de ribonucleaza celulară cu DEAE-dextran facilitează infecția gazdei. Deci, pentru transfecție spectrul de gazde este mult mai mare decît pentru infecția orizontală cu virusul încapsidat (matur).

(ii) *Pătrunderea și dezvelirea.*

În *sistemul fag-bacterie*, datorită rezistenței peretelui celular, s-a dezvoltat un mecanism special de străpungere și introducere a acidului nucleic: după atașare la perete prin fibrele cozii, manșonul se contractă apropiind capul fagului de placa bazală; cilindrul axial rigid străpunge întîi placa apoi peretele deja slăbit prin acţiunea muramidazei fagice prezentă în placa bazală (fig. 215, 216). Tubul cozii se apropie de membrana protoplastului şi acidul nucleic viral trece în citoplasmă. Capsida fagică rămîne la exteriorul celulei şi doar o cantitate mică de proteină pătrunde în celulă în asociaţie cu acidul nucleic. Fagii filamentoşi care se ataşează de pili trimit acidul nucleic în celulă prin canalul central al fimbriei.

Virusurile animale adsorbite la receptori sînt incorporate în întregime printr-un mecanism de fagocitoză (*viropexie*). La unele virusuri cu înveliş cele două membrane fuzionează şi nucleoproteina virală este trecută direct în celulă. Virusurile goale, după umflare, apar în vezicule (fagolizozomi) citoplasmice (fig. 199).

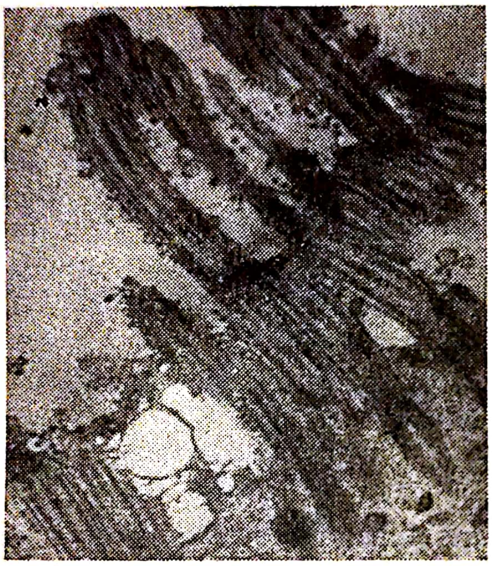


Fig. 197 : Penetrarea virusului gripal în celule ciliate ale mucoasei respiratorii :
particule de virus cauzînd alipirea cililor. (*Lemercier, G.* şi *Fontagnes, R.*)

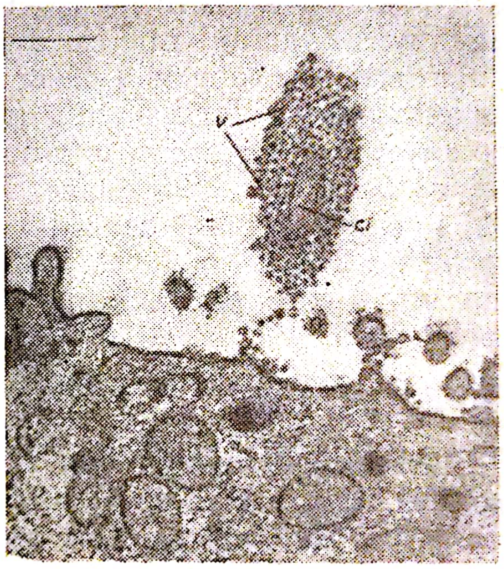


Fig. 198 : Electronomicrografia unui grup de particule de virus gripal (*v*) ataşat la un cil (*ci*) pe mucoasa respiratorie. (*Lemercier, G.* şi *Fontagnes, R.*)

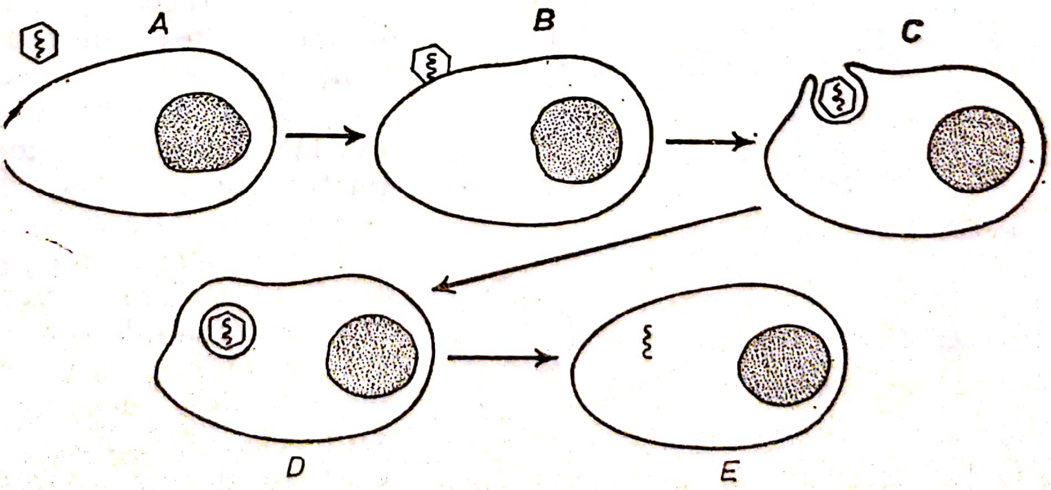


Fig. 199 : Pătrunderea unui virus în celulă.

A : Coliziunea întîmplătoare a virionului cu celula gazdă.
B : Ataşarea la receptori.
C ; „Viropexia".
D : Virionul intracitoplasmic înglobat în veziculă.
E : Dezintegrarea capsidei şi liberarea acidului nucleic viral. (*Cruickshank, R.* şi colab.)

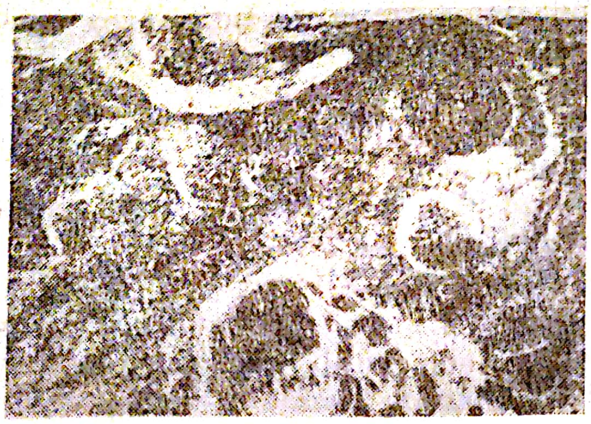


Fig. 200: Pătrunderea adenovirusului în celula gazdă.

Particule de adenovirus (*a*, *b*, *c*) incorporate în membrana celulei KB la 10 minute după infectare. Mulaj negativ ușor umbrit cu vapori de metal (× 200 000). (*Brown, D.T.*, *Burlingham, B.T.*)

Enzimele secretate în fagozom relaxează capsida liberînd acidul nucleic. La adenovirus, acidul nucleic este liberat prin găurile rămase în capsidă prin pierderea pentonelor a căror fibre au servit la adsorbție. Pătrunderea și dezvelirea virusului vaccinia (poxvirus) este un proces complex: după încorporarea prin fagozom, într-un prim stadiu sînt îndepărtate învelișurile și corpii laterali (prin hidrolaze) liberînd nucleoproteina în citoplasmă; în stadiul următor are loc degradarea nucleoproteinei prin intervenția RNA polimerazei-DNA dependentă prezentă în virion și care induce apariția unei enzime virale noi, *decapsidaza*, grație căreia este eliberat acidul nucleic viral (fig. 195, 196 și 201).

Variatele mecanisme enunțate au ca rezultat liberarea acidului nucleic viral.

b) **Biosinteza componentelor virale.** Este rezultatul expresiei funcționale (fenotipice) a genomului viral și constă în procesele de sinteză a macromoleculelor virale. Au loc prin mecanisme specifice de transfer al informației din genom la polipeptide și care variază în funcție de *sediul* replicării virusului, *tipul* și *cantitatea* de acid nucleic viral (tabel 102).

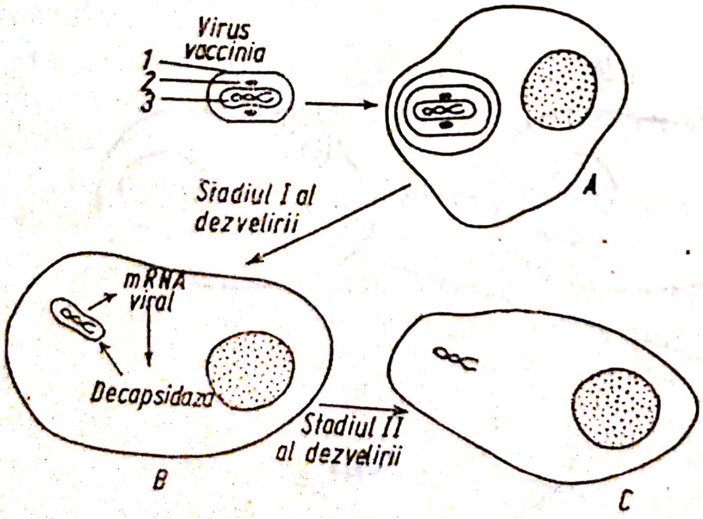


Fig. 201: Pătrunderea și dezvelirea virusului vaccinia

1: învelișuri externe; *2*: corpi laterali; *3*: miezul conținînd DNA viral și RNA-transcriptază).
A: Virus în veziculă citoplasmică. *B*: Învelișurile și corpii laterali sînt îndepărtate. Decapsidaza codificată de virus liberează acidul nucleic viral (*C*). (*Cruickshank, R.* și colab.)

— Sinteza de acizi nucleici („replicarea") este faza precoce și esențială în declanșarea infecției. Secvența proceselor apare cel mai limpede în infecția cu RNA sau DNA virusuri monospirale purtătoare de mesaj genetic (spiră +). Este catalizată la RNA virusuri de o *replicază*: RNA sintetaza sau RNA polimerază-RNA dependentă și, respectiv, de o DNA polimerază-DNA dependentă la virusurile DNA. Fiecare replicază recunoaște genomul de origine și îl necesită ca matriță pentru a construi lanțuri complementare. Împreună cu matrița, lanțul complementar

Tabelul 102

Caracteristici replicative şi de codificare a virusurilor

Grup de virus	Genom	Sediu de replicare	Mărimea genomului (× 10⁶ daltoni)	Capacitate de codificare (număr de polipeptide)**	Număr polipeptide virale identificate
Picornavirus	RNA ss *	Citoplasmă	2.6	6	4
Togavirus	RNA ss	Citoplasmă	4.0	8	4
Paramyxovirus	RNA ss	Citoplasmă	6.0	10	9
Myxovirus	RNA ss segmentat	Nucleu (?) Citoplasmă	5.0	10	9
Reovirus	RNA ds segmentat	Citoplasmă	15.0	10	10
Oncornavirus	RNA ss segmentat	Nucleu	12.0	?	8
Papovavirus	DNA ds	Nucleu	3.6	4	2—3
Adenovirus	DNA ds	Nucleu	25.0	25	13
Herpesvirus	DNA ds	Nucleu	82.0	50	27

* *ss* = monospiral; *ds* = dubluspiral

** Numărul de gene poate fi aproximat ţinînd seama că (1) codul genetic este triplet nesuperpozabil, (2) acidul nucleic cu g.m. 10^6 monospiral (ex.: forma replicativă) conţine 6000 nucleotide şi (3) genele virale codifică polipeptide fiecare conţinînd aproximativ 200 aminoacizi.

formează o structură DNA sau, respectiv, RNA *dublu spirală* denumită *formă replicativă* (*FR*) produsă ca un intermediar în cursul replicării virusurilor DNA sau RNA monospirale.

Replicarea acestor virusuri decurge în 2 etape: (i) spira parentală (+) serveşte ca matriţă pentru sinteza unei spire complementare (—) şi duplexul realizat este FR; (ii) spira (—) din duplex serveşte ca matriţă pentru sinteza (semiconservativă) a noi spire (+). Prima spiră (+) construită este

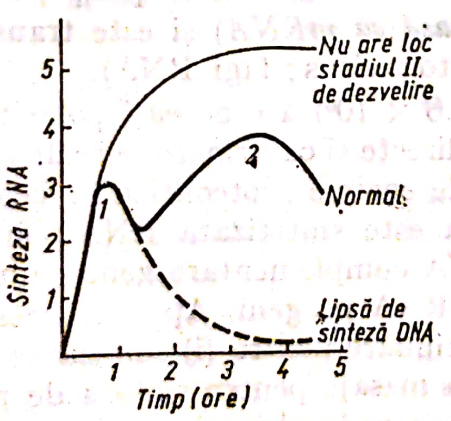


Fig. 203: Sinteza de RNA în celule infectate cu virus vaccinia.

Transcripţia DNA parental are ca rezultat vîrful 1 al curbei iar aceea a spirelor DNA progen dă vîrful 2. Dacă se inhibă dezvelirea virionilor sinteza RNA de către RNA polimeraza virală va continua. Inhibarea sintezei de DNA viral are ca rezultat anularea vîrfului 2. (*Woodson, B.*)

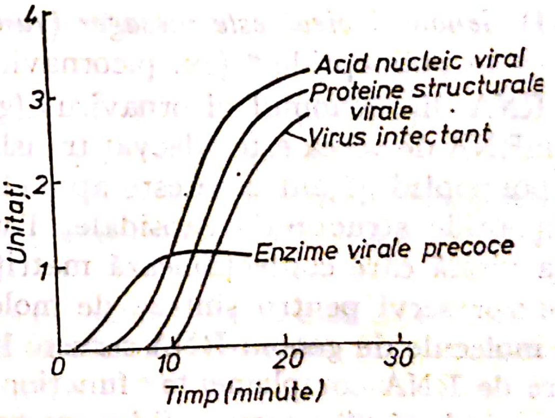


Fig. 202: Secvenţa în timp a proceselor de sinteze în cursul ciclului de multiplicare a unui fag. (*Cruickshank, R.* şi colab.)

dizlocuită de sinteza celei următoare ș.a.m.d. Apare astfel în celulă o populaţie heterogenă de molecule dublu spirale formată din 2 clase: (a) molecule dublu spirale pure (FR) și (b) molecule dublu spirale avînd la capete fire (cozi) monospirale de lungimi diferite și care corespund lanţurilor născînde complementare. Această din urmă clasă este denumită *intermediar replicativ* (sînt parţial dublu spirale). Dintre spirele complementare (+) o parte servesc în continuare ca matriţe adiţionale pentru a doua fază de sinteze și o parte (20—60%) sînt incorporate ca genom în particule virus progeni.

— Translaţia (sinteza de polipeptide) are loc în 2 etape: *translaţia precoce*, realizată pe matriţa parentală, prin care se realizează enzime virale indispensabile declanșării biosintezei macromoleculelor virale (ex. forme replicative intermediare de acizi nucleici și acid nucleic progen, menţionate mai sus) și alte proteine funcţionale (ex. inhibitori ai metabolismului gazdă) și *translaţia tardivă*, realizată în stadii avansate pe baza matriţelor reprezentate de acid nucleic progen, prin care se confecţionează proteine structurale capsidale.

Mecanisme de control. Replicarea virusului este un proces foarte complex și foarte strict programat în ceea ce privește atît tipul (specificitatea) cît și frecvenţa (cantitatea), momentul începerii și momentul terminării sintezei diferitelor macromolecule virus-induse. Mecanismele de control ale acestor procese de expresie fenotipică a diferitelor gene aparţin de asemenea virusului care induce în celulă *„factori iniţiatori”* (factori σ) care identifică codonii promotor („start”) pe DNA viral și prin aceasta indică RNA-polimerazei de unde să înceapă transcripţia. Operonii grupaţi în cistroni pot funcţiona în continuare seriat pînă cînd în celulă apar *„factori terminatori”* (factori ρ) care decuplează trascripţia de mRNA.

a) **Virusuri cu genom RNA**. Sînt 3 categorii care se diferenţiază total prin mecanismul de transfer al informaţiei de la genom la polipeptide:

1) *Genomul viral este mesager* (*funcţionează ca mRNA*) și este translat direct în polipeptide * (ex. picornavirus și togavirus; fagi RNA).

RNA din genomul picornavirus (g.m. 2.6×10^6) are aceeași polaritate cu mRNA de aceea este adecvat translaţiei directe și ca urmare se realizează un polipeptid gigant care este apoi clivat de enzime proteolitice în cele 4 polipeptide structurale capsidale. Totodată este sintetizată RNA-polimeraza virală care confecţionează matriţe RNA complementare genomului și care vor servi pentru sinteza de molecule RNA progeni. Apariţia acestor noi molecule de genom RNA servesc în continuare pentru (i) sinteza de noi spire de RNA complementar funcţionînd ca mesaje pentru sinteza de proteine virale și (ii) pentru a fi încorporat ca genom în virionii progeni.

---

* Replicarea acestor virusuri este o situaţie unică în biologie prin aceea că transferul informaţiei genetice de la o moleculă RNA la altă moleculă se efectuează fără intervenţia materialului genetic universal, DNA; o aceeași moleculă RNA funcţionează atît ca depozitar al informaţiei genetice cît și ca propriul ei mesager în translaţia în polipeptide.

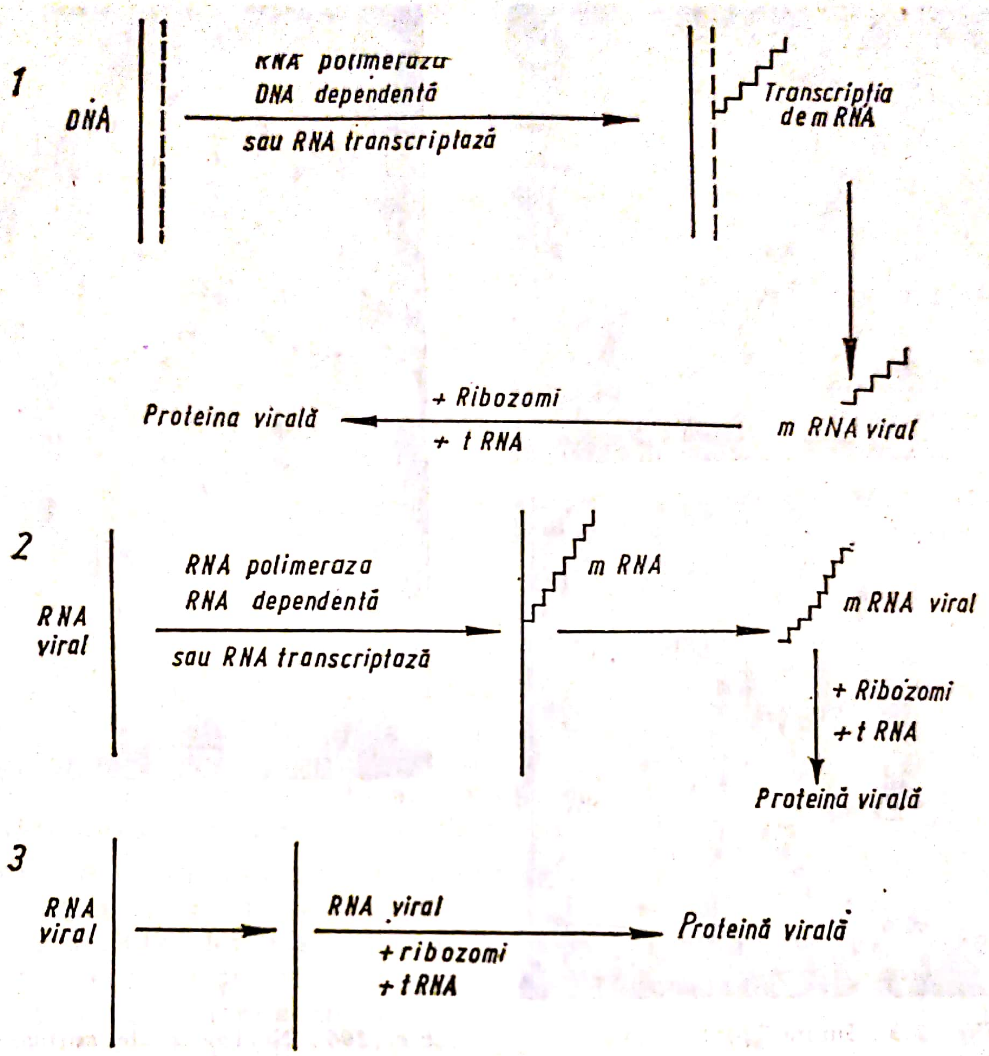

1
DNA
RNA polimeraza
DNA dependentă
sau RNA transcriptază
Transcripția
de mRNA
+ Ribozomi
Proteina virală
+ t RNA
m RNA viral
2
RNA
viral
RNA polimeraza
RNA dependentă
sau RNA transcriptază
m RNA
m RNA viral
+ Ribozomi
+ t RNA
Proteină virală
3
RNA
viral
RNA viral
+ ribozomi
+ t RNA
Proteină virală

Fig. 204: Diagrame reprezentînd secvența evenimentelor sintezei de proteine în infecția unei celule cu DNA virus (*1*), RNA virus cu genom „negativ" (*2*) și RNA virus cu genom „pozitiv" (*3*).

2) *mRNA este transcris direct de pe genom* de către o transcriptază (RNA polimerază-RNA dependentă) asociată virionului deoarece în citoplasma celulei nu există mecanisme de prelucrare de molecule mari de mRNA. mRNA este complementar genomului în ceea ce privește secvența bazelor și urmează a fi translat în polipeptide (ex. orthomyxovirus, paramyxovirus, reovirus, togavirus).

Paramyxovirus și orthomyxovirus au genom RNA monospiral, alcătuit din *piesă unică* la primul și din *8 piese* la ultimul, de aceea RNA-polimeraza asociată virionului va transcrie o singură moleculă și respectiv 8 molecule mRNA care servesc pentru confecționarea de proteine structurale (hemaglutinină, neuraminidază, hemolizină, proteina pentru fuziune celulară etc.) și proteine nestructurale.

Genomul reovirus este format din 10 molecule RNA dublu spiral însă spira activă (accesibilă pentru transcriere = translatabilă de către enzima asociată virionului) este numai aceea complementară în raport cu mRNA.

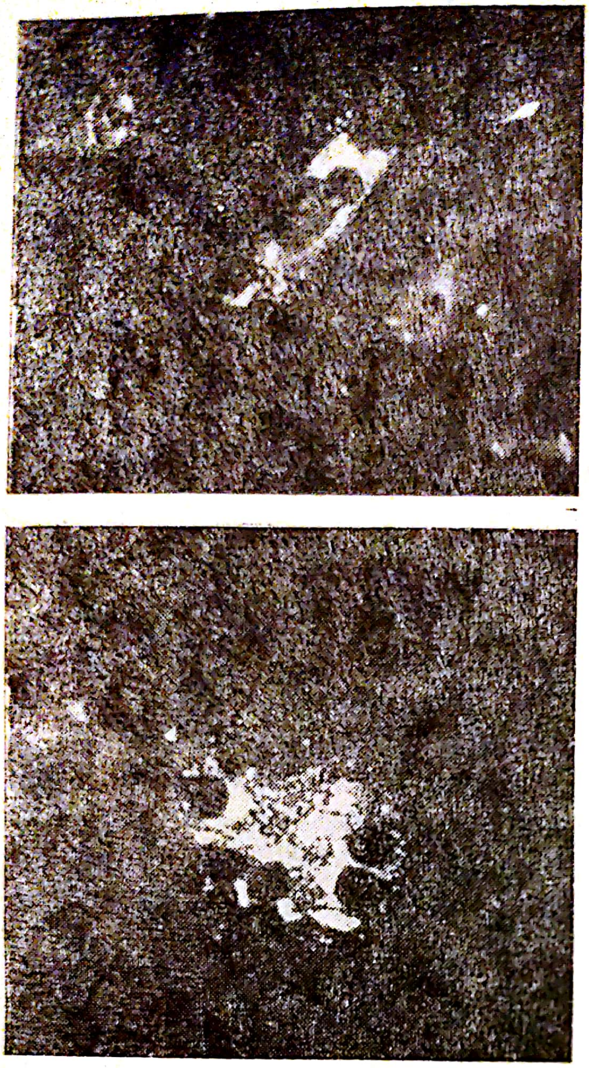


Fig. 205 : Imunofluorescență :

celule BSC_1 infectate cu virus rujeolic „colorate" cu ser imun conjugat cu isotiocianat de fluoresceină.

a : Aspect la 20 ore după infecție : antigen nou rujeolic formînd în citoplasmă granule fine și incluzii mai mari.

b : Aspect la 31 ore : sinciții mari cu antigen viral rujeolic formînd incluzii mari. (*Follet, E.A.C.* și colab.)

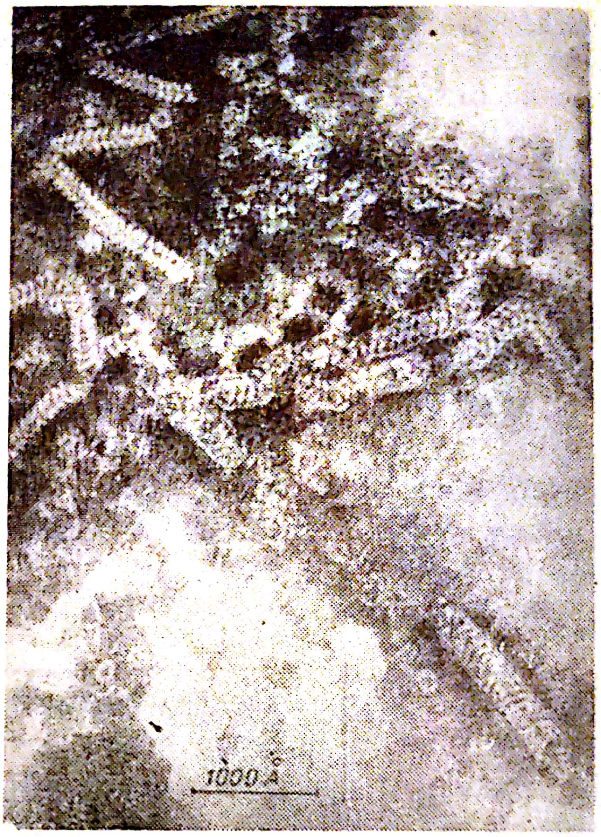


Fig. 206 : Nucleocapside (antigen NP) de virus rujeolic în celulă infectată.

Colorație negativă cu fosfotungstat. (*Almeida, J.D.* și *Howatson, A.F.*)

Cele 10 molecule de mRNA servesc pentru translația a 10 polipeptide dintre care numai 7 sînt structurale.

3) *RNA al virusurilor din familia RETROVIRIDAE* (*oncornavirus* și *lentivirus*) transcrie în final un mRNA omolog genomului viral ca secvență (ca și la grupul 1) *însă printr-un intermediar DNA.*

Genomul oncornavirus este format din 4 segmente RNA monospiral asociat cu o enzimă virală specifică, *revers-transcriptaza* (DNA polimeraza-RNA dependentă) care realizează pe matrița RNA virală o spiră DNA complementară, alcătuind un hibrid RNA/DNA tranzitor ; ulterior, pe spira DNA se sintetizează o a doua spiră DNA complementară. Acest DNA dublu spiral migrează în nucleu pentru a fi integrat prin intervenția *DNA-ligazei* și de unde, ulterior, se comportă ca un DNA nuclear inducînd fie ciclul litic productiv, fie ciclul neproductiv transformant.

În cursul ciclului productiv, hibridul RNA/cDNA, provirusul DNA dublu spiral și DNA/mRNA viral apăruți secvențial reprezintă *intermediarii re-*

plicativi care au ca rezultat apariția de oncornavirus progen capabil de o nouă infecție orizontală.

b) **Virusuri cu genom DNA**. Sînt mai omogene în ceea ce privește mecanismele de multiplicare deoarece 1) au genome DNA dublu spiral * și 2) replică, transcriu și ansamblează în nucleul celulei.

Unele pot transforma celule *in vitro* și pot produce tumori la animale.

1) *Transcripția* ** (*sinteza de mRNA*) *în celule infectate litic și în celule transformate*. Transcripția de mRNA specific viral are loc în nucleu pe matrița DNA dublu spiral prin mecanisme identice transcripției de mRNA celular, printr-o enzimă (RNA polimeraza-DNA dependentă) similară RNA-polimerazei II celulare.

ADN monospiral al fagului ΦX174 și Parvovirusurilor și ADN dublu spiral al Papovavirusurilor sînt infectante în stare liberă deoarece pot fi transcrise și translate de aparatul existent al gazdei. ADN al Poxvirusurilor nu este infectant dacă nu este transcris de enzima asociată virionului.

Proteinele precoce sintetizate sînt *enzime virale* implicate în sinteza pe matriță de DNA parental, prin replicare semiconservativă, a spire de *DNA intermediar* (*„forma replicativă”*) și care servesc pentru confecționarea de molecule DNA progen (prin DNA polimerază-DNA dependentă) similare modelului parental. Moleculele DNA progeni servesc acum pentru confecționarea de nou mRNA pentru proteine structurale (*proteine tardive*), și ca genom DNA din care se asamblează virionii descendenți. În *celulele transformate sînt transcrise numai moleculele de mRNA precoce*.

2) *Translația* (*sinteza de polipeptide*) *în celule infectate litic și celule transformate*. Proteinele codificate de virus sînt: polimerazele virale, substanțe regulatoare a sintezelor gazdă sau virale, proteine și enzime structurale în virioni, ca și enzime și proteine implicate în eliberarea virionilor maturi. Sediul sintezei proteinelor în celulă sînt polizomii citoplasmatici. Virusul polyoma și SV40 pot produce fie infecție litică fie infecție abortivă în funcție de tipul de celulă infectată.

În infecția litică, genomul viral odată liberat din capsidă este transcris în nucleul gazdei și transcriptele (molecule mRNA) sînt transportate în citoplasmă unde funcționează ca matrițe pentru sinteza de polipeptide. Precoce în cursul infecției se induc antigene noi și enzime celulare implicate în sinteza de DNA. După replicarea DNA, virionii progeni sînt asamblați în nucleu, din genomele virale nou sintetizate și polipeptidele structurale sintetizate în citoplasmă și trecute apoi în nucleu. Proteinele capsidale se sintetizează numai în celulele infectate productiv, litic.

În celulele în care genomul viral este doar *parțial exprimat* apare *antigen T* care reacționează cu ser de la animale purtătoare de tumori virus-induse.

---

* Virusurile cu DNA monospiral (Parvoviridae) posedă spira activă (master, pozitivă) care servește de matriță pentru realizarea — prin DNA-polimerază preexistentă în celulă — a spirei complementare obținîndu-se DNA dublu spiral și de aici mai departe se comportă ca un virus DNA dublu spiral. Acidul nucleic este infectant.

** *Transcripton*, este unitatea de transcripție în molecule mRNA. Poate să corespundă la mono- sau policistron.

Ca şi pentru RNA virusuri, numărul de polipeptide codificate de genomul viral variază în raport cu cantitatea de acid nucleic de la 4 pentru papovavirus, la cel puţin 13 pentru adenovirus şi cel puţin 24 la herpesvirus (tabel 102).

c) **Sisteme genetice virale.** (Strategia genomului viral). Esenţa proceselor şi mecanismelor moleculare prin care se replică diferitele virusuri constă în modul de realizare a *mRNA* funcţional în celula gazdă. O sistematizare a acestor mecanisme a fost realizată de Baltimore în 1971 şi în care rolul central revine mRNA.

Se diferenţiază astfel 6 „sisteme genetice" virale (vezi fig. 207, tabel 103 şi 104) în funcţie de tipul de acid nucleic parental, mecanismele puse în lucru pentru transcrierea mRNA şi raportul de complementaritate între spira parentală master (purtătoarea informaţiei genetice) şi spira mRNA care este totdeauna funcţional translatabilă adică semnificativă pentru translaţie (şi de aceea arbitrar considerată spiră +)*

Tabelul 103

Strategia genomului viral (după Wildy, 1973) **

Model de strategie	Acid nucleic	Enzime (polimeraze) în virion	Remarci	Exemple
I	RNA (+) monospiral infecţios	—	genomul, total sau parţial, acţionează ca mesager (mRNA)	Picornavirus Togavirus Fagi RNA
II	DNA (±) dubluspiral, infecţios	—	genomul, total sau parţial, poate fi transcris şi translat de aparatul existent al gazdei	Papovavirus
III	DNA (+ sau ? —) monospiral, infecţios	—	genomul viral poate fi prelucrat de enzime preexistente ale gazdei într-o formă adecvată transcripţiei şi translaţiei de către aparatul existent al gazdei	Parvovirus Fag ΦX174
IV	RNA (—) monospiral, neinfecţios	RNA-polimerază	genomul nu este infecţios dacă nu este introdus concomitent cu o nouă transcriptază	Orthomyxovirus Paramyxovirus Rhabdovirus Reovirus
V	RNA (±) dubluspiral, neinfecţios	RNA-polimerază	(ca mai sus)	
VI	DNA (±) dubluspiral, neinfecţios	Transcriptază	(ca mai sus)	Poxvirus
VII	RNA (?) monospiral, neinfecţios	Reverstranscriptază	genomul posedă capacitatea de a integra informaţia genetică sub formă de DNA proviral	Oncornavirus

---

* spira translatabilă

** Wildy, P.: Unity and Variety in Virology, *J. gen. Virol.*, 1973, *20*, 1—5.

Tabelul 104

Enzime virale structurale (prezente în virion) implicate în metabolismul acizilor nucleici *

Grup de virus	Enzime structurale
Virusuri învelite	
Poxvirus	RNA polimerază — DNA dependentă nucleotid fosfohidrolază proteinkinază endonuclează **, exonuclează riboadenilat transferază terminală
Herpesvirus	proteinkinază
Orthomyxovirus	RNA-polimerază — RNA dependentă
Paramyxovirus	RNA-polimerază — RNA dependentă proteinkinază
Rhabdovirus	RNA polimerază — RNA dependentă proteinkinază
Oncornavirus	DNA polimerază — RNA dependentă DNA ligază *** exonuclează
Virusuri „goale”	
Reovirus	RNA polimerază — RNA dependentă
Adenovirus	endonuclează
Papovavirus	endonuclează
Fagul T_2	ATP-ază ; lyzozim

* Matthews, R. E. F. : *J. gen. Virol.*, 1976, *27* (2), 135—149

** *Endonucleazele* sînt enzime codificate de bacterii, virusuri şi plasmide, a căror funcţie este *clivarea* DNA numai la un set specific de secvenţe nucleotidice (enzime„ de restricţie”). Sînt foarte utile, împreună cu DNA ligaza şi integraza pentru construirea hărţilor genetice.

*** *DNA ligaza* construieşte legături covalente între extremităţile libere monocatenare şi complementare de la cele două capete ale unui DNA dubluspiral linear transformîndu-l în circular (ex. : provirus). *DNA integraza* mijloceşte inserţia DNA proviral în genomul gazdă clivat într-un punct specific de o endonuclează de restricţie (ex. : endonucleaza de E. coli K, *Eco K* sau de H. influenzae, *Hin d I* etc.)
Nucleotidtransferaza operează transferul de baze nucleotidice.

1) genom viral mesager translat direct în polipeptide şi realizînd matriţa RNA complementară pentru confecţionarea genomelor progeni (ex. : picornavirus, togavirus, fagi RNA) ;

2) virusuri în care mRNA este transcris direct de pe genomul monospiral şi complementar prin polimerază asociată virionului (ex. orthomyxovirusuri, paramyxovirusuri, rhabdovirusuri) ;

3) virusuri în care mRNA este transcris direct de pe spira complementară, singura accesibilă enzimei asociate în virionul cu RNA dublu spiral (ex. Diplornavirusuri : reovirus şi orbivirus) ;

4) Oncornavirusurile a căror RNA monospiral este transcris în mRNA printr-un DNA intermediar realizat de reverstranscriptaza asociată virionului (retrovirusuri) ;

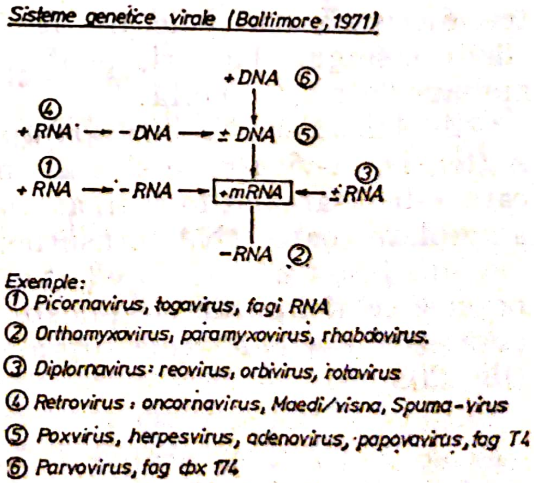

Sisteme genetice virale (Baltimore, 1971)
+DNA ⑥
④
+RNA — -DNA — ± DNA ⑤
①
+RNA — -RNA — +mRNA — ±RNA
③
-RNA ②
Exemple:
① Picornavirus, togavirus, fagi RNA
② Orthomyxovirus, paramyxovirus, rhabdovirus.
③ Diplornavirus: reovirus, orbivirus, rotavirus
④ Retrovirus : oncornavirus, Maedi/visna, Spuma-virus
⑤ Poxvirus, herpesvirus, adenovirus, papovavirus, fag T4
⑥ Parvovirus, fag φx 174

Fig. 207 : Strategia genomului viral.
(*Baltimore, D.*)

5) virusuri cu genom DNA dubluspiral replicate prin mecanisme similare transcripției de mRNA celular (ex. virus vaccinia, herpesvirus, adenovirus, papovavirus, fag T_4);

6) virusuri cu genom DNA monospiral care realizează întîi dublu helixul DNA apoi se comportă ca și precedentele (ex. parvovirus, fag Φ X174).

Ori de cîte ori prima funcție executată de acidul nucleic din virion, după liberarea sa în celulă, este transferul informației la un *alt* acid nucleic(DNA → RNA, RNA → DNA) sau unei spire complementare (RNA → cRNA), *enzima responsabilă de acest transfer este prezentă în virion*. Cu alte cuvinte, cu excepția grupei 1 (picornavirus, togavirus), toate celelalte RNA-virusuri animale nu pot declanșa infecția celulei fără intervenția transcriptazei asociată virionului.

La DNA-virusuri (grupele 5 și 6) situația se inversează: cu excepția Poxvirusurilor a căror acid nucleic nu este infectant dacă nu este introdusă și transcriptaza asociată virionului, DNA al Herpesvirusurilor, Parvovirusurilor și Papovavirusurilor este infectant deoarece poate fi transcris și translat ori prelucrat în acest sens de către aparatul preexistent în celula gazdă.

RNA polimeraza-DNA dependentă a fost descoperită în 1967 în virusul vaccinia, RNA polimeraza-RNA dependentă în 1968 în reovirus, RNA polimeraza-RNAss dependentă în 1970 în virusul stomatitei veziculare și în 1971 în virusul bolii Newcastle iar DNA polimeraza-RNA dependentă sau reverstranscriptaza a fost descoperită în 1970 de Temin și, independent, de Baltimore în leucovirusuri.

Reverstranscriptaza Retrovirusurilor *, prin realizarea de cópii provirus DNA a virusurilor RNA tumorale, este implicată în transformarea canceroasă a celulelor gazdă.

c) **Asamblarea și eliberarea virionilor**. Sinteza proteinelor induse de DNA și RNA-virusuri are loc în citoplasmă la nivelul polysomilor instructați de mRNA viral. Asamblarea nucleocapsidelor variază ca sediu.

(i) *La fagii T-par* maturarea constă în condensarea moleculelor DNA în capside realizînd capete de fag; se atașează apoi cilindri axiali de obicei avînd atașate plăci bazale și urmat de montarea manșonului contractil și, la urmă, de atașarea fibrelor cozii la plăci. Asamblarea are oarecum caracterele cristalizării și fiecare fază necesită terminarea fazei precedente. La sfîrșit, o singură bacterie poate conține cîteva mii de virioni maturi ocupînd aproape întreaga celulă.

(ii) *Asamblarea la virusuri animale* prezintă variații de la virus la virus. Astfel, DNA-virusurile sînt asamblate în nucleu cu excepția poxvirusului care este asamblat în sedii asociate cu membrane citoplasmice așa cum sînt asamblate toate RNA-virusurile.

— Virusuri învelite. Învelișurile virale sînt derivate din membranele celulei gazdă și aplicate nucleocapsidelor în momentul cînd virusul părăsește nucleul sau suprafața celulei, fenomen numit „*înmugurire*” (fig. 208).

---

* Familia RETROVIRIDAE are 3 subfamilii: oncornavirusuri, virusul visna/maedi și virusuri spumoase (foamy- sau spuma-virus). Din același grup fac parte și *lentivirusurile* care însă nu sînt oncogene.

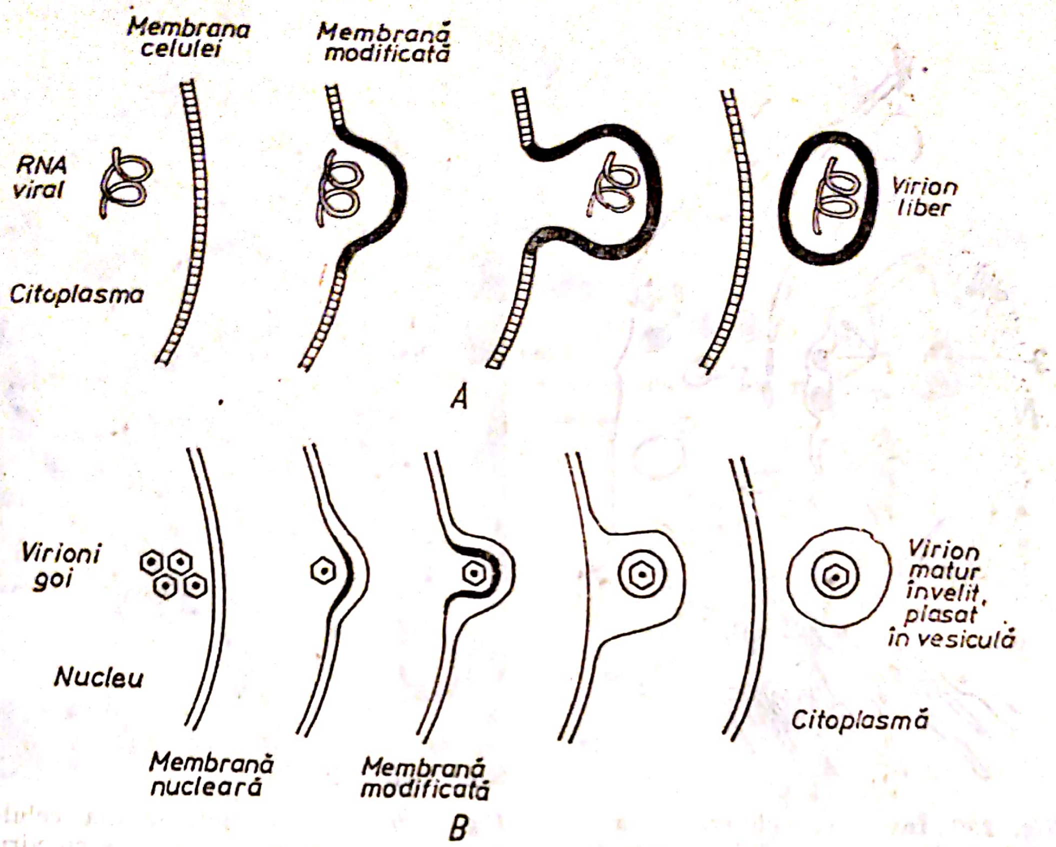


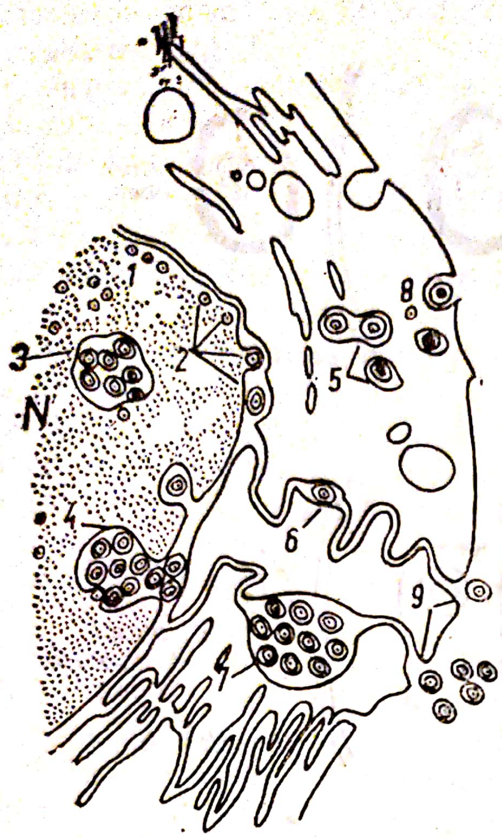
Fig. 208: Diagramă reprezentînd învelirea şi eliberarea virusurilor animale.
A: Ortomyxovirus sau paramyxovirus: nucleocapsida (*RNP*) este deplasată spre periferia celulei şi învelită în membrana celulară modificată prin inserţia de componente virale.
B: Nucleocapsida de virus herpetic este asamblată în nucleu, învelită în foiţa internă a membranei nucleare modificată prin inserţie de antigene virus-specifice; virionii înveliţi străbat citoplasma spre exterior plasaţi într-o vacuolă.

Înainte de învelirea virionului, *membranele de la sediul respectiv sînt modificate prin încorporarea antigenelor specific-virale* (glicoproteine virale; peplomere).

Virusul herpetic se înveleşte într-o membrană care derivă din foiţa internă a membranei *nucleare*, ajunge în cisterna perinucleară de unde mai mulţi virioni înveliţi, fie plasaţi într-o vacuolă comună construită din membrana nucleară externă fie prin sistemul de canale endoplasmice, sînt transportaţi pînă la periferia celulei şi liberaţi în exterior prin exocitoză (fig. 208, 209, 210).

Myxovirusurile şi rhabdovirusurile sînt învelite şi eliminate prin înmugurire la nivelul membranei *citoplasmice* în prealabil modificată prin inserţia de glicoproteine virale (fig. 211) responsabile de hemadsorbţie. Neuraminidaza poate juca rol în eliberarea virionilor din membrana celulară. Producţia şi liberarea de virioni prin înmugurire poate continua timp relativ îndelungat, uneori stabilindu-se infecţii persistente cu transfecţia celulelor-fiică, descendenţii gazdei infectate continuînd sinteza şi liberarea de virioni.

Coronavirusurile şi flavivirusurile sînt învelite în timpul „înmuguririi" la nivelul membranelor *intracitoplasmice*.



1
2
3
N
4
4
5
6
8
9

Fig. 209 : Învelirea și eliberarea virusului herpetic din celula infectată.

Nucleocapside asamblate în nucleu. (*1*) sînt învelite în foița internă a membranei nucleare în prealabil modificată (*2*) și virionii ajung în pungi derivate din membrana nucleară (*3*) sau direct în cisterna perinucleară (*4*). De aici virionii sînt eliberați la exteriorul celulei, fie prin saci formați din foița externă a membranei nucleare (*5*), fie prin segregare în spațiul cisternal al reticulului endoplasmatic (*6*), (*7*) care eliberează virionii maturi la suprafață (*8*), (*9*). (*Darlington* și *Moss*)

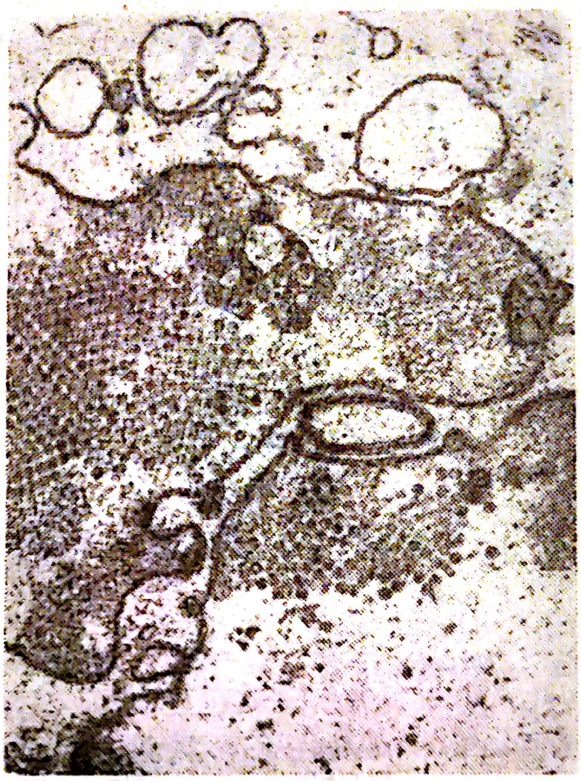


Fig. 210 : Electronomicrografia celulei Hep-2 la 28 ore după infectare cu virus herpetic tip 2.

Se observă numeroase nucleocapside asamblate în nucleu, cîțiva virioni în curs de învelire în foița internă a membranei nucleare și virus matur în vacuole (vezi și fig. 209). (*Kurstak, E.* și *Kurstak, C.*)

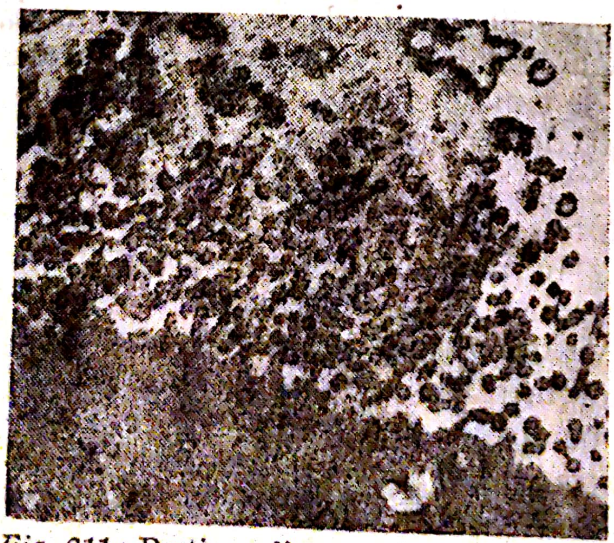
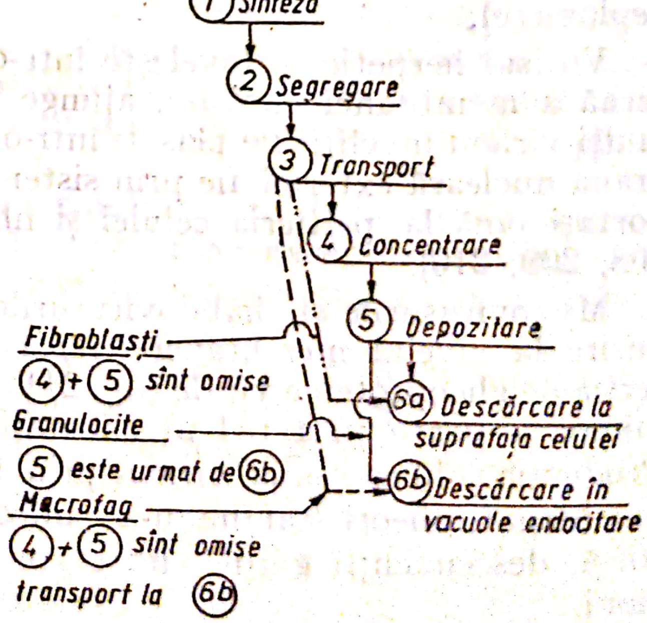


Fig. 211 : Porțiune din suprafața unei celule HeLa eliberînd prin „înmugurire" virus rujeolic matur (× 20 000). (*Mannweiler, K.*)



① Sinteză
② Segregare
③ Transport
④ Concentrare
⑤ Depozitare
6a Descărcare la suprafața celulei
6b Descărcare în vacuole endocitare
Fibroblaști
④+⑤ sînt omise
Granulocite
⑤ este urmat de 6b
Macrofag
④+⑤ sînt omise
transport la 6b

Fig. 212 : Diagrama procesului secretor : variații pe o temă comună. (*George Palade*)

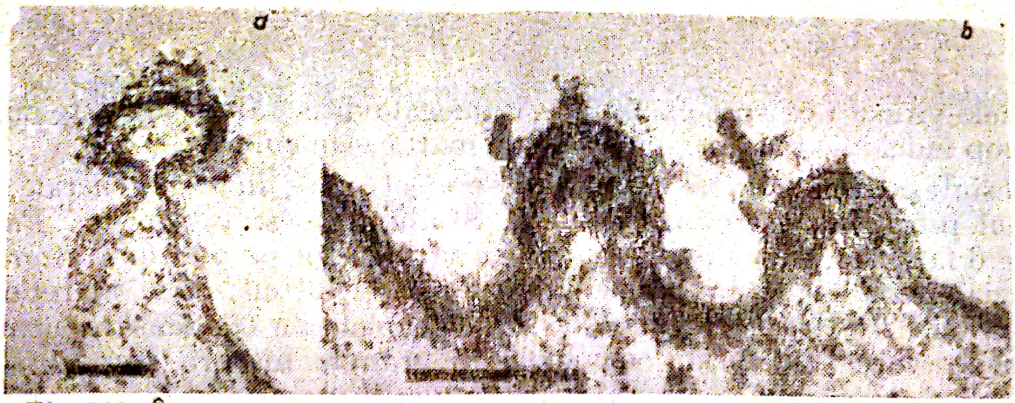


Fig. 213 : Învelirea și eliberarea virusului respirator-sincițial (RS) la suprafața celulelor Vero.

Antigene virale specifice în membrană identificate cu imunoferitină.(*Büchi, T.* și *Howe, C.*)

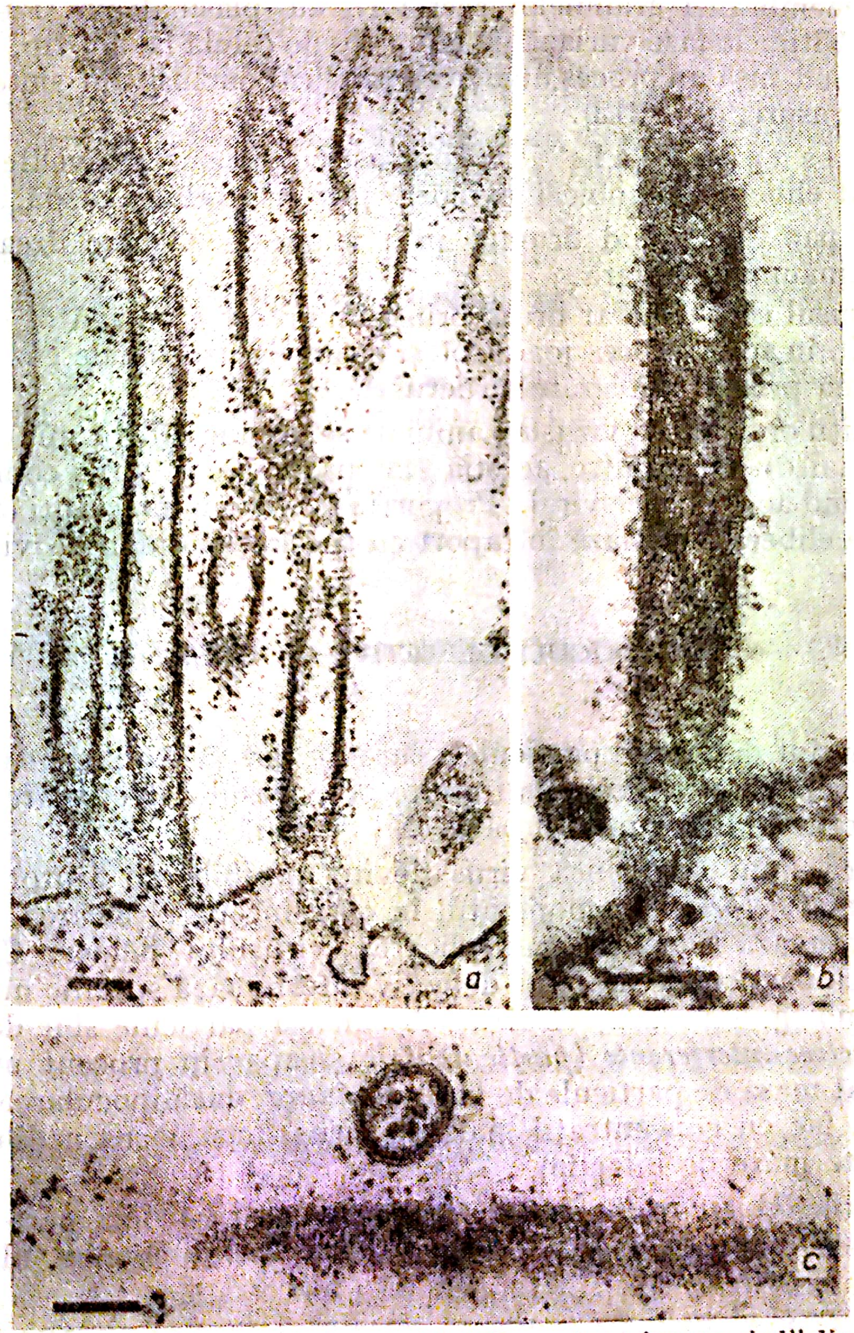


Fig. 214 : Virus respirator-sincițial filamentos „înmugurind" din celule Vero la 48 de ore de la infecție, marcat cu imunoferitină.

a : Filament viral incomplet.
b : Filament viral complet, cu componenta internă.
c : Filament viral secționat transversal. (*Bächi, T.* și *Howe, C.*)

Unele virusuri ca spre exemplu Citomegalovirus rămîn asociate cu celulele timp îndelungat şi doar puţin virus matur este eliberat.

Biosinteza şi eliberarea virusurilor se efectuează, în linii generale, după modelul proceselor secretorii celulare. Studiind acest proces, *G. Palade* * descrie 6 faze succesive distincte; *sinteza* proteinelor pe polizomi, *segregarea* (extruzia) ireversibilă a produsului nou în spaţiul cisternal al reticulului endoplasmic, *transportul intracelular*, în vacuolele de condensare urmat de *concentrare* care transformă vacuolele în granule mature secretorii şi de *depozitare intracelulară* temporară în granulaţii învelite în membrană derivînd din complexe Golgi.

Descărcarea produsului finit are loc prin exocitoză, posibil ca urmare a fuzionării membranei granulelor secretorii cu plasmalema şi reorganizare ulterioară. Ultimele faze variază de la un tip de celulă la alt tip, activităţile secretorii fiind însă un proces ubicvitar implicat inclusiv în sinteza şi eliberarea de virusuri. (fig. 212).

— Virusuri „goale". În contrast cu virusurile învelite, virusurile „goale" sînt eliberate de obicei exploziv prin liza celulei gazdă.

Fagii T-par îşi deschid drumul prin muramidază care lizează peretele bacterian dinăuntru înafară.

Poliovirusul este eliberat brusc printr-un proces asemănător de liză celulară. Posibil, în acest proces joacă rol şi enzimele lizozomale gazdă eliberate în citoplasmă prin dezintegrare structurală.

În condiţii optime, cu virusuri animale se produc cîteva mii de virioni în celulă. Numai o parte dintre aceştia sînt particule de virus complet, infectant, conţinînd acid nucleic viral. Proporţia de virioni infectanţi în populaţia de particule eliberată variază în raport cu specia şi tulpina de virus.

2. PARTICULE DEFECTIVE DE VIRUS

Defective sînt denumite particulele care nu pot să realizeze singure ciclul complet de replicare. De cele mai multe ori virusul defectiv are toate proteinele structurale dar numai o parte din genom.

Maturarea unui asemenea virus devine posibilă cu ajutorul unui alt virus, denumit *helper*. Din momentul în care începe replicarea, virusul defectiv interferează blocînd multiplicarea virusului helper. Caracteristic este faptul că particulele de virus defectiv interferează specific multiplicarea virusului omolog, standard, virulent. Asemenea particule sînt de aceea denumite *defective-interferente* (*particule DI*) şi apar în procent mare, dislocuind treptat masa de particule de virus *standard*, dacă inocularea şi trecerile succesive se fac cu concentraţii mari de virus (cu „virus nediluat", la o multiplicitate mare de infecţie).

Particulele DI au fost puse în evidenţă pentru prima oară în 1954 la virus gripal de către *Von Magnus* şi ulterior la numeroase alte virusuri

---

* Savantul de origine română *George Palade* a primit în 1974 Premiul Nobel pentru descrierea fazică şi topografică a procesului secretor în pancreasul exocrin.

RNA şi DNA, cu sau fără membrane, survenind atît experimental cît şi natural.

Replicarea particulelor DI ca populaţie virală dominantă sau exclusivă poate realiza o stare de echilibru cu gazda, infecţia devenind subacută, persistentă sau latentă.

— Defectivitatea este de grade diferite şi poate să ţină de *cantitatea prea mică de acid nucleic*, de unde insuficientă informaţie genetică (ex. virusul satelit asociat adenovirusului), ori de *mutaţii spre defectivitate* apărute în genomul unui virus autonom, normal.

Virusurile defective se adsorb şi pătrund în celulă unde declanşează sinteza de acid nucleic şi proteine virale, dar sînt incapabile de maturare şi eliberare. Momentul exact cînd se întrerupe ciclul depinde de sediul mutaţiei în genomul viral.

Particulele de virus defectiv apărute inhibă sinteza virionului standard şi prin aceasta inhibă apariţia efectului citopatic caracteristic. *Virusul defectiv are deci un rol regulator al sintezei de virus standard* determinînd o limitare a severităţii leziunilor date de acesta. Din punct de vedere antigenic virusul defectiv nu se diferenţiază de virusul standard.

Virusurile defective sînt foarte răspîndite pe scara taxonomică.

Sînt acuzate de substituirea unei eventuale infecţii acute, productive, printr-o infecţie cronică persistentă.

— Defectivitatea poate fi indusă şi de caracteristici ale celulei gazdă. Astfel, virusuri cu genom normal inoculate în celule *ne*permisive (restrictive), incompetente de a sintetiza virioni completi, pot determina o infecţie abortivă, cu producţie de virus incomplet, similar virusurilor cu genom defectiv.

B. INFECŢIA VIRALĂ PERSISTENTĂ, CRONICĂ — CICLICĂ

Numeroase virusuri induc infecţii persistente (tabel 115) la animale şi la om, cu manifestări clinice variate, cel mai bine cunoscute fiind acele cu implicarea sistemului nervos central.

Aspectele biochimice şi genetice ale infecţiilor cronice persistente sînt de o importanţă deosebită prin: (i) *relaţia cu sindroame identificate în patologie*, (ii) *implicaţii în utilizarea vaccinurilor vii atenuate*, (iii) *consecinţele directe privind practica diagnosticului de laborator.*

1. MECANISME IMPLICATE ÎN INFECŢIA PERSISTENTĂ

Între factorii care condiţionează instalarea infecţiei virale persistente se menţionează:

(i) *Rolul particulelor de virus defectiv-interferent* (particule DI): experimental, infectarea celulelor cu un inocul concentrat, în care există o proporţie mare de particule DI, duce la instalarea infecţiei persistente (probabil, particulele DI interferează infecţia cu virus virulent la nivelul sintezei de acizi nucleici sau proteine, procesul fiind în mare măsură dependent de competența celulei gazdă). Experimental, au fost obținute infecții persistente în culturi celulare, cu inocul bogat în particule DI, cu virus rabic, rujeolic, gripal, paragripal etc.

(ii) *Rolul DNA intermediar al virusurilor DNA sau RNA*. Cu tehnici de hibridare moleculară, în linii de celule derivate din țesuturi umane au fost puse în evidență, integrate în genomul celular gazdă, genome virale aparținînd *virusurilor papova* simiene (SV40) sau umane (BK; JC). Nu se cunoaște mecanismul prin care devine posibilă găzduirea persistentă în țesuturi umane a asemenea genome de virusuri cu potențial oncogen, fără o expresie decelabilă a genelor virale (complet represat).

Oncornavirusurile, prin mijlocirea reverstranscriptazei asociată virionului, își transcriu genomul RNA în copii DNA pe care fie că le integrează în genomul gazdă fie constituie intermediarul replicativ al ciclului productiv.

Recent s-a demonstrat că și *alte virusuri* pot forma fie intermediari DNA infecțios în culturi de celule de mamifere, fie intermediari DNA (provirus), care au fost puse în evidență în linii celulare umane prin cocultivare cu celule competente indicator (transfecție) și/sau hibridizare moleculară DNA/RNA cu RNA viral complementar marcat cu radionuclide. (V.M. Jdanov a emis ipoteza, încă neconfirmată, că orice virus RNA poate fi transcris în provirus DNA dacă celula gazdă este latent infectată cu oncornavirus și exprimă reverstranscriptază, enzima responsabilă de acest proces).

2. MODELE DE EXPRESIE A INFECȚIEI PERSISTENTE

În tabelul 115 sînt prezentate infecțiile persistente *in vivo* la om și animale, cunoscute a fi determinate de virusuri RNA, DNA și de „agenții encefalopatiilor spongiforme" *.

În infecția persistentă, nelitică, *genomul viral* poate fi:

(i) *complet exprimat*, cu producție cronică sau ciclică de virus infectant în titruri mari, (ii) *parțial exprimat*, cu producție de unele componente virale sau (iii) *total represat* **, determinînd infecția latentă, neproductivă (vezi paragraful următor).

Pe de altă parte, *răspunsul imun* al gazdei față de antigenele virale care apar în asemenea modele de infecție variază între limite foarte largi, de la neglijabil (toleranță), la mult peste nivelul normal. Din aceste interacțiuni rezultă *expresia clinică* a infecției virale persistente.

Între infecțiile virale persistente la om cel mai bine cunoscute sînt:

(i) Infecția latentă persistentă cu *virusul herpesului simplex* a neuronilor *** ganglionilor sensoriali, în care, expresia (derepresia) genomului viral poate fi indusă prin diferiți factori care lezează neuronul ca de pildă iradiere cu UV, cocultivare, explantare și cultură in vitro; genomul viral integrat poate fi decelat și prin hibridare moleculară cu RNA complementar marcat radioactiv (vezi cap. L).

---

* Ex.: boala Kuru, sindromul Jacob-Creutzfeld.

** Genomul viral represat poate fi *integrat* în genom gazdă sau *liber*, în stare episomală.

*** Neuronul este o celulă care nu se divide fapt care ar putea avea semnificație pentru persistența infecției. Virusul herpetic a fost izolat la om de numeroase ori din ganglionii *trigemen, toracic, sacral*, în raport cu localizarea infecției persistente.

Virusul herpesului simplex fotoinactivat este transformant pentru culturi celulare (fibroblaşti de embrion şobolan), iar celulele transformate dau tumori după inoculare la hamster sugar.

(ii) *Papovavirusurile umane. Virusul JC* a fost izolat pînă astăzi din creier la peste 20 bolnavi cu leucoencefalopatie multifocală progresivă[*], boală neurologică rară, fatală, survenind de regulă în asociere cu boli debilitante, neoplazice, stări de imunodepresie.

Virusul BK a fost izolat din urina unui număr de bolnavi supuşi terapiei imunodepresive după transplant renal şi este oncogen la hamster sugar (determină un fibrosarcom).

(iii) *Panencefalita sclerozantă subacută* (SSPE) este produsă de un virus structural şi antigenic identic cu virusul rujeolic, genomele celor două virusuri avînd peste 70% omologie. SSPE ar fi infecţia persistentă, lent evolutivă, cu un virus rujeolic defectiv, în condiţii particulare de vîrstă şi de reactivitate imunitară.

(iv). *Infecţia rubeolică congenitală* poate determina la adolescent o *panencefalită progresivă,* similară SSPE cu deosebirea că în LCR se găsesc titruri mari de anticorpi faţă de virus rubeolic. Din creier de bolnav s-a izolat virus rubeolic prin cocultivare sau explantare în cultură in vitro.

(v) *Infecţia cu virusul hepatitic tip B* determină uneori o infecţie persistentă cu producţie de antigen hepatitic B de suprafaţă (HBs Ag) prezent în ser în concentraţii mari (200 μg/ml) la bolnavi cu hepatită cronică, eventual şi cu producere episodică de particule DANE (considerate virus B matur) sau/şi DNA polimerază virală. Starea de purtător de HBsAg apare ca o trăsătură genetică autosomală recesivă.

Infecţia clinică uşoară sau inaparentă şi terapia imunosupresivă par să favorizeze instalarea infecţiei persistente exprimată prin portajul de HBsAg.

În concluzie, primul element care se impune atenţiei în legătură cu determinismul infecţiei virale persistente sînt particulele de *virus defectiv,* mutanţi cu genom incomplet, incapabile să determine biosinteza de virioni maturi infectanţi deci un ciclu acut productiv şi citolitic.

Mutanţii *ts* condiţional letali (care poartă o „leziune" într-o zonă determinată din genom), spontani sau induşi, ca şi tulpinile atenuate folosite drept vaccin viu nepatogen (ex. tulpina Schwarz de vaccin rujeolic), stabilesc cu uşurinţă infecţii persistente în culturi celulare cu producere de nucleocapside virale în nucleu şi citoplasmă şi care se pot transmite vertical descendenţilor celulelor infectate.

Mulţi alţi factori (concentraţia inoculului şi proporţia de particule DI, gradul de permisivitate (competenţă) a gazdei în biosinteza virusului, caracteristicile răspunsului imunitar etc.,) sînt decisivi în orientarea interacţiunii virus-celulă spre instituirea stării persistente.

---

[*] În această boală, *oligodendrocitele* suferă o infecţie litică productivă, în timp ce *astrocitele* fac infecţie persistentă, transformantă, neproductivă. Există multe alte exemple: în *neurolimfomatoza acută*, a găinilor *(boala lui Mareck)*, virusul (un herpes virus) determină un ciclu acut productiv numai în celulele epiteliului folicular al penelor iar în restul organelor infecţia este persistentă, neproductivă. (Boala lui Mareck este astăzi prevenită prin vaccinare).

C. INFECȚIA INTEGRATĂ, LATENTĂ

1. LIZOGENIA

Este relația stabilă specială stabilită între fag și bacteria gazdă în care genomul viral este integrat în și se replică sincron cu genomul gazdă * (fig. 215).

Spre deosebire de ciclul litic, productiv, indus de fagii virulenți, lizogenia este indusă de *fagii temperați*. *Bacteriile lizogenizate* cresc și se divid ca și cele normale cu diferența că *devin rezistente* la suprainfecția cu același tip de fag și *sînt lizogene* adică pot ceda fagul bacteriilor noi, lizosensibile, care eventual fac o infecție litică, productivă.

Profag este denumită structura neinfecțioasă și transmisibilă descendenților care corespunde genomului DNA viral integrat în genomul gazdă; din aceasta, prin *inducție*, se poate genera fagul matur (fig. 216 și 217).

Bacteriile lizogenizate pot să adsoarbă nou fag identic dar nu-l replică (sînt „imune" la suprainfecție).

Inducția fagului latent poate fi intensificată prin expunerea bacteriei la iradiere cu UV sau prin substanțe chimice (ex. Mitomicina C).

Prin experiment de conjugare bacteriană se demonstrează că profagul este asociat cu cromozomul bacterian unde ocupă o poziție determinată între genele bacteriei gazdă. De ex., fagul lambda (λ) al E. coli se inseră ca profag între genele de utilizare a galactozei (*gal*) și de sinteză a biotinei (*bio*). Fiecare profag diferit are un situs diferit, caracteristic, pe cromozomul bacterian replicîndu-se ca o singură unitate.

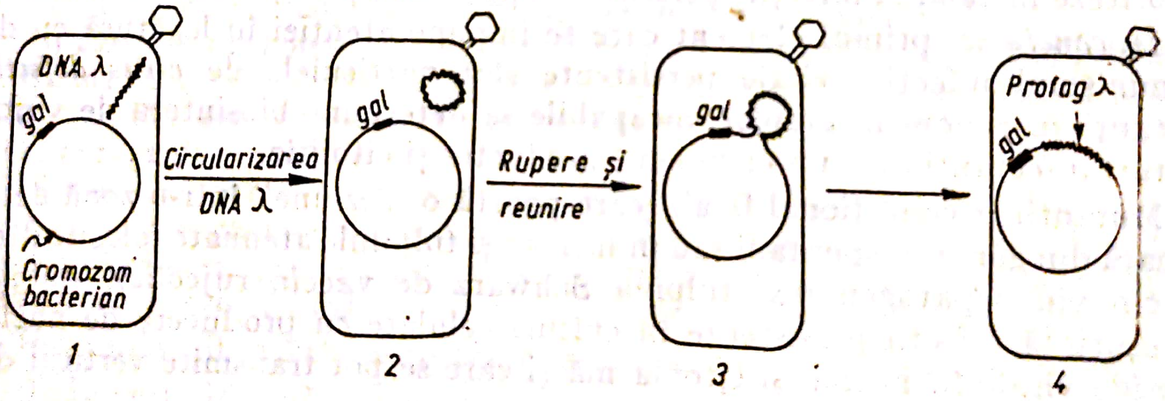


Fig. 215: Integrarea profagului în cromozomul celulei gazdă.
DNA linear al fagului lambda injectat în celulă (*1*) este circularizat de DNA-ligază (*2*). Urmează împerecherea
între o secvență de baze adiacente locusului *gal* și o secvență omoloagă pe DNA fagic (*3*) care duce la integra-
rea prin rupere-reunire a celor două structuri DNA circulare operată de DNA-integrază (*4*). DNA fagic astfel
integrat este denumit *profag* (Vezi nota în subsol la pag. 688).

---

* DNA linear liberat în celulă de fagul temperat devine circular prin formare de legături
covalente între segmente scurte de DNA monospiral complementare existente la cele 2 extre-
mități prin acțiunea enzimei *DNA-ligaza*. Apoi, prin intervenția altei enzime virale, *DNA-inte-*
graza acest punct de pe inelul de DNA viral este inserat, prin rupere-reunire, într-un situs
specific din cromozomul bacterian. Genele virale se aliniază secvenței genelor gazdă într-o
ordine determinată de punctul de integrare. Procesul de inducție (sau liberare) a genomului
viral survine prin mecanism invers inserției. (fig. 216 și 217).

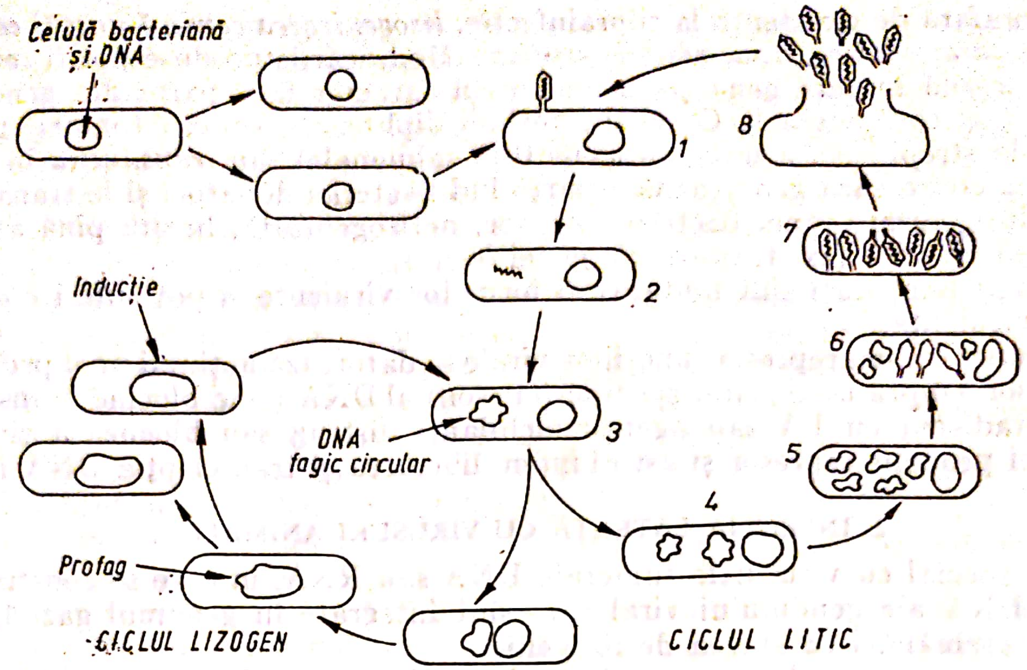

Celulă bacteriană și DNA
1
2
3
4
5
6
7
8
Inducție
DNA fagic circular
Profag
CICLUL LIZOGEN
CICLUL LITIC

Fig. 216 : Ciclurile litic şi lizogen a unui fag temperat.

După adsorbţie şi injecţia acidului nucleic (*1*), (*2*), DNA fagic devine circular (*3*). În continuare, poate fi integrat ca profag în DNA gazdă şi se replică sincron cu acesta (ciclul lizogen) ori se replică (*4*), (*5*), induce sinteza de proteine virale (*6*), se maturează (*7*) şi este eliberat prin ruperea celulei (*8*) : ciclu litic.

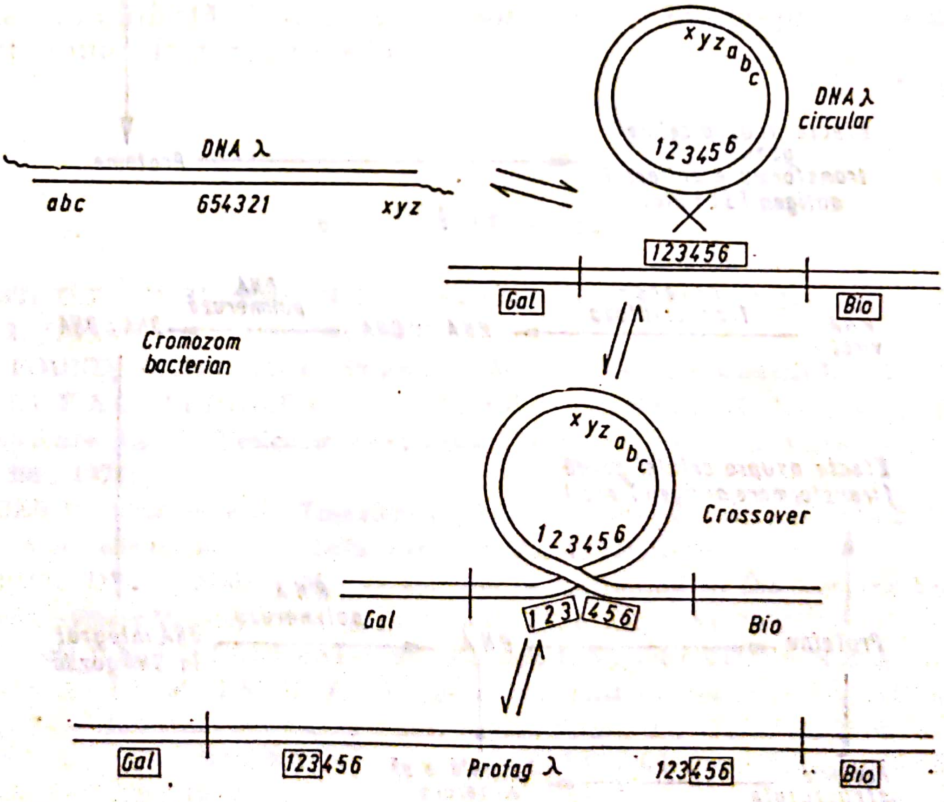

xyzabc
123456
DNA λ circular
DNA λ
abc
654321
xyz
123456
Gal
Bio
Cromozom bacterian
xyzabc
123456
Crossover
Gal
123
456
Bio
Gal
123456
Profag λ
123456
Bio

Fig. 217 : Secvenţa evenimentelor integrării profagului lambda în cromozomul bacterian.

Se evidenţiază raporturile de poziţie a genelor virale şi bacteriene. Inducţia profagului are loc prin reversia acestui mecanism, eventual cu preluarea de gene bacteriene (ex. : *gal*) odată cu DNA fagic.

În afară de rezistenţa la suprainfecţie, *lizogenizarea conferă uneori celulei gazdă caractere noi, transmisibile ereditar.* Modificările produse pot fi *conversia lizogenă* în care gena controlînd noul caracter face parte din genomul fagic (ex. toxigeneza la Corynebacterium diphteriae, sinteza toxinei eritrogene la streptococ, a unor antigene 0 la salmonele) sau *transducţia* în care fagul incorporează gene gazdă (aparţinînd bacteriei donator) şi le transferă, prin lizogenizare, unei bacterii receptor, nelizogenizată, lipsită pînă atunci de acel caracter (ex. transducţia genei *lac*).

Fagii temperaţi sînt mutanţi ai formelor virulente şi pot suferi mutaţii spre virulenţă.

Controlul sau represia funcţiilor virale se datorează acţiunii unei proteine represor asupra unui sediu specific (operon) al DNA fagic blocînd transcripţia. Iradierea cu UV sau agenţii alchilanţi distrug sau blochează sinteza acestei proteine represor şi astfel induc liberarea şi transcripţia DNA fagic.

2. INFECŢIA LATENTĂ CU VIRUSURI ANIMALE

În special cu virusurile tumorale DNA sau RNA, în care se construiesc copii DNA ale genomului viral care sînt integrate în genomul gazdă, are multe asemănări cu starea de lizogenie.

Persistenţa a cel puţin unei porţiuni din genomul viral transformant în celula transformată are o importanţă hotărîtoare pentru declanşarea mecanismelor oncogenezei virale.

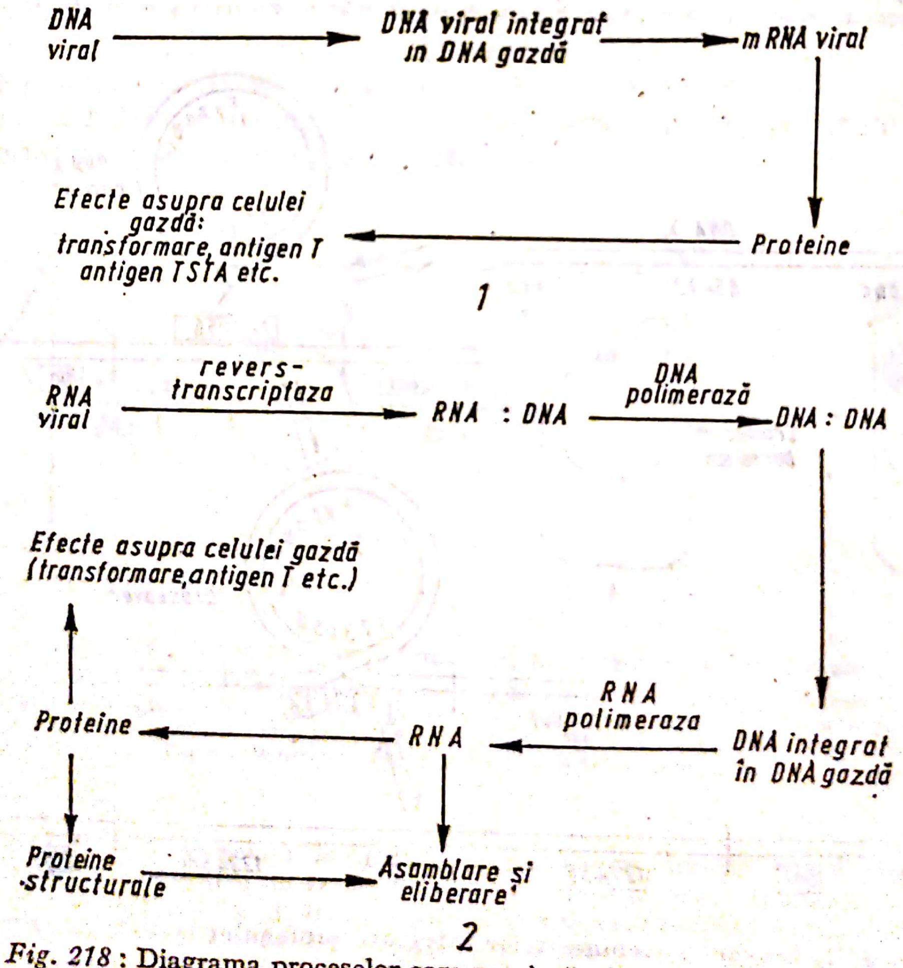

DNA viral
DNA viral integrat în DNA gazdă
m RNA viral
Proteine
Efecte asupra celulei gazdă: transformare, antigen T antigen TSTA etc.
1
RNA viral
revers-transcriptaza
RNA : DNA
DNA polimerază
DNA : DNA
DNA integrat în DNA gazdă
RNA polimeraza
RNA
Proteine
Efecte asupra celulei gazdă (transformare, antigen T etc.)
Proteine structurale
Asamblare şi eliberare
2

Fig. 218 : Diagrama proceselor care asociază virusuri oncogene DNA (*1*) sau RNA (*2*) cu transformarea celulară, apariţia de antigen T, antigen TSTA etc.

Analog conversiei lizogene, în care porţiuni limitate din genomul viral integrat sînt transcrise şi translate în toxină difterică, genomul virusurilor oncogene integrat este parţial exprimat, fapt demonstrat de apariţia în celula gazdă de componente virale structurale sau nestructurale, decelabile ca antigene virus-induse, prezente în interiorul celulei (ex. antigen T*) sau implantate în membrană (antigen TSTA **). Sinteza şi eliberarea de HBsAg *** poate să reprezinte expresia parţială a genomului virusului hepatitic tip B integrat în hepatocit.

Întrucît asemenea infecţie *nelitică* este şi *neproductivă*, demonstrarea prezenţei genomului viral, sau numai a unor porţiuni, în celula transformată sau numai parţial şi reversibil transformată, necesită explorarea cu metode specifice de mare rezoluţie moleculară, altele decît acele care se adresează infecţiei productive, cum sînt de exemplu:

— prezenţa antigenelor T sau/şi TSTA;

— hibridizarea moleculară cRNA/DNA;

— inducerea infecţiei productive şi recuperarea virusului prin cocultivare sau fuziune cu celule permisive (vezi cap. L).

Numeroase virusuri DNA şi RNA care instituie infecţii latente integrate induc în cele din urmă modificări antigenice specifice *în* şi *pe* celula gazdă şi faţă de care gazda montează reacţii imunitare de rejetare. Rezolvarea acestui tip de interacţiune poate fi eliminarea celulelor transformate sau evoluţia spre constituirea de tumori (vezi cap XLIV).

Unii susţin ubicvitatea oncornavirusurilor tip C sub formă de genom integrat complet sau parţial represat; maturarea virionilor ar avea loc ca urmare a suprainfectării cu un helper virus sau prin derepresie ca urmare a intervenţiei unor factori de mediu.

BIBLIOGRAFIE

1. BROWN D.T., BURLINGHAM B.T.: Penetration of Host Cell Membranes by Adenovirus 2. *J. Virol.*, *12*, 2, 386—396, 1973.
2. CIBA FOUND. SYMPOSIUM: *Strategy of the Viral Genome*. Churchill, Edinburgh, 1971.
3. FOLLET E.A.C., PRINGLE C.R., WUNNER W.H., SKEHEL J.J.: Virus Replication in Enucleate Cells: Vesicular Stomatitis Virus and Influenza Virus. *J. Virol*, *13*, 2, 394—399, 1974.
4. GERBER P.: Studies on the Transfer of Subviral Infectivity from SV 40—Induced Hamster Tumor Cells to Indicator Cells. *Virology*, *28*, 4, 501, 1966.
5. HAREWOOD K., AHMED M.: Production of Antiserum to the Reverse Transcriptase of Mason—Pfizer Monkey Virus. *J. gen. Virol.*, *36*, 2, 227—235, 1977.
6. HOLLAND J.J., VILLARREAL L.P., WELSH R.M., OLDSTONE M.B.A., KOHNE D., LAZZARINI R., SCOLNICK E.: Long-Term Persistent Vesicular Stomatitis Virus and Rabies Virus Infection of Cells *In Vitro*. *J. gen. Virol.*, *33*, 193—211, 1976.
7. HUANG A.S., BALTIMORE D.: Defective Viral Particles and Viral Diseases Processes. *Nature*, *226*, 325, 1970.

---

* T = tumoral.

** TSTA = tumor specific transplantation antigen.

*** HBsAg = antigen hepatitic B de suprafaţă.

8. MAYR A. : Borna Virus. A New Model for Slow Virus Research. *Ann. Inst. Pasteur*, Paris, *123*, 4, 545—552, 1972.

9. MUSSGAY M., ENZMANN P.-J., HORZINEK M.C., WEILAND E. : Growth Cycle of Arboviruses in Vertebrate and Arhropod Cells. *Progr. med. Virol.*, *19*, 251—323, 1975.

10. NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH : Current Undestanding of Persistent Viral Infections and Their Implications in Human Disease. Summary of a Workshop. *J. Infect. Dis.*, *133*, 6, 707—714, 1976.

11. NOORDAA J. Van der : Infectivity, Oncogenicity and Transforming Ability of BK Virus and BK Virus DNA. *J. gen. Virol.*, *30*, 371—373, 1976.

12. PADGETT B.L., WALKER D.L., ZURHEIN G.M., HODACH A.E., CHOU S.M. : JC Papovavirus in Progressive Multifocal Leukoencephalopathy. *J. Infect. Dis.*, *133*, 686—690, 1976.

13. PALADE G. : Intracellular Aspects of the Process of Protein Synthesis. *Science*, *189*, 347—358, 1975.

14. PRICE R.W. et all. : Latent Infection of Sensory Ganglia with Herpes Simplex Virus. *Science*, *188*, 938, 1975.

15. SCHEID A., CHOPPIN P.W. : Identification of Biological Activities of Paramyxovirus glycoproteins. Activation of Cell Fusion, Hemolysis and Infectivity by Proteolytic Cleavage of an Inactive Precursor Protein of Sendai Virus. *Virology*, *57*, 475—490, 1974.

16. SCHLOM J., HARTER D.H., BURNY A., SPIEGELMAN S. : DNA Polymerase Activities in Virions of Visna Virus a Causative Agent of „Slow" Neurological Disease. *Proc. Natl Acad. Sci.*, *68*, 182—186, 1971.

17. SHATKIN A.J. : Viruses with Segmented Ribonucleic Acid Genomes : Multiplication of Influenza *versus* Reovirus. *Bacteriol. Rev.*, *35*, 3, 250—266, 1971.

18. TEMIN H.M., BALTIMORE D. : RNA—directed DNA-Synthesis and RNA Tumor Viruses. *Adv. Virus. Res.*, *17*, 129, 1972.

19. TER MEULEN V. : Viral Etiology of Human Chronic Encephalopathy. *Ann. Inst. Pasteur*, Paris, *123*, 4, 521—536, 1972.

20. TER MEULEN V., MARTIN S.J. : Genesis and Maintenance of a Persistent Infection by Canine Distemper Virus. *J. gen. Virol.*, *32*, 431—440, 1976.

21. ZHDANOV V.M., BOGOMOLOVA N.N., GAVRILOV V.I., ANDZHAPARIDZE, O.G., DRYABIN P.G., ASTAKHOVA A.N. : Infectious DNA of Tick-Borne Encephalitis Virus. *Arch. ges. Virusforsh.*, *45*, 215—224, 1974.

22. ZHDANOV V.M., PARFONOVICH M.I. : Integration of Measles Virus Nucleic Acid into the Cell Genome. *Arch. Ges. Virusforsch.*, *45*, 3, 225—234, 1974.

XLI. GENETICĂ ŞI INTERACŢIUNI VIRALE

Ereditatea şi *variabilitatea* sînt laturile contrarii ale acelui fenomen de automişcare a substanţei vii care, indiferent de treapta de organizare — virusuri, bacterii, organisme superioare —, constă în procesele prin care se realizează *acumularea, conservarea* şi *transmiterea* caracterelor specifice din generaţie în generaţie, în permanentă interacţiune (adaptare) cu mediul în care evoluează.

Genetica este ştiinţa eredităţii şi variabilităţii a căror studiu este abordat pe două planuri:

a. **Genetica moleculară** avînd ca obiect: (i) *natura chimică* a materialului genetic; (ii) *procesele cu caracter conservator* adică: replicarea, transcripţia şi translaţia în sisteme prin care materialul genetic îşi exercită controlul asupra metabolismului şi dezvoltării şi determină reapariţia caracterelor parentale la descendenţi şi (iii) *procesele varianţei genetice* şi care sînt mutaţia şi recombinarea (hibridizarea).

b. **Genetica populaţiilor** * se ocupă cu fenomenologia eredităţii ca expresie la nivelul grupelor de populaţie, a frecvenţelor şi interacţiunilor genetice, a factorilor genetici determinanţi (mutaţie, selecţie, migraţie, „drift", „shift", izolare etc.) care induc modificări cu semnificaţie pentru evoluţia speciilor şi descrie, în termeni matematici, aceste fenomene şi tendinţa lor.

Natura chimică şi procesele cu caracter conservator de auto- şi heteroreplicare a materialului genetic ca şi mecanismele de control al replicării au fost expuse în capitolele XXXVIII şi XL. În cele ce urmează definesc procesele de variaţie genetică şi unele aspecte de genetică a populaţiilor virale.

1. GENETICĂ MOLECULARĂ

Genetica moleculară s-a dezvoltat graţie studiilor genetice efectuate pe sistemul fag-bacterie gazdă deoarece ambele aceste forme de organizare posedă un *cromozom unic* la care s-au putut identifica structurile care depozitează informaţia genetică (genele). Datorită faptului că între aceste structuri şi expresia lor fenotipică (*markeri genetici*) este o relaţie directă, a devenit posibilă construirea de *hărţi ligaturale* sau *genetice* (reprezentări diagramatice ale distanţelor genetice relative care separă genele ne-allele dintr-o structură legată, cum este genoforul viral sau bacterian, şi aranjamentul situsurilor mutaţionale (allele) pe teritoriul unei gene particulare, definite prin unităţi de recombinare).

---

* Tulpinile „sălbatice" (din natură) sau „de laborator" (întreţinute) sînt populaţii de virioni cu o compoziţie heterogenă şi care se modifică în timp în ceea ce priveşte proporţia diferitelor grupe de indivizi cu proprietăţi definite. Dinamica acestor modificări în populaţia virală se află în continuă interacţiune şi condiţionare reciprocă cu dinamica similară a populaţiei de celule sau animale gazdă.

Metoda plajelor de liză generate de o singură unitate infectantă (vezi cap. XXXIX) şi identificarea unui număr suficient de markeri genetici selectaţi în raport de semnificaţia lor şi de posibilităţi oferite pentru experimentare au permis, pe fondul progreselor biochimiei moleculare, dezvoltarea considerabilă a studiilor de genetică moleculară care au ajuns astăzi pînă la sinteza şi transferul de gene („ingineria genetică"). Aceeaşi metodologie este în curs de aplicare la analiza genetică a virusurilor animale.

a) **Markeri genetici**. Sînt expresii fenotipice modificate ale virusurilor ca urmare a apariţiei unei singure modificări (mutaţii) în gena respectivă („mutaţie intragenetică" sau „mutaţie punctiformă"). Genele allele interesate se numesc „gene marker".

Markeri genetici mai des utilizaţi sînt antigene specifice virus-induse, rezistenţa la drog, spectrul de receptivitate pentru gazde, incapacitatea de a replica la temperaturi ridicate, dimensiunea şi aspectul plajelor de liză, patogenitatea etc.

b) **Mutanţi virali**. Mutanţi apar „spontan" pentru markerii menţionaţi la rate variind între 1 la 10^4 — 1 la 10^8 în culturi (ca urmare a interacţiunii mutagenilor ubicvitari intracelulari şi antimutagenilor), sau, mult intensificat, după tratarea populaţiei virale cu *agenţi mutageni* (radiaţii ionizante, radiaţii ultraviolete, analogii bazelor purinice şi pirimidinice, agenţi alkylanţi *.

Nu sînt diferenţe calitative între mutaţie „spontană" şi aceea indusă cu mutageni. Caracterul nou este transmis descendenţilor şi nu este rezultatul segregării perechilor allele sau recombinării genetice.

(i) *Mutanţi condiţional-letali*. Sînt mutanţii care *nu* produc virus infectant (virioni maturi; ciclu productiv) în *anumite* condiţii precis controlate experimental, denumite ne-permisive, însă dau naştere la progeni infectanţi în alte condiţii denumite permisive.

— Mutanţi *ts* (temperatură-sensibili) se caracterizează prin aceea că multiplică la temperaturi joase (28°—31°C), permisive, dar nu şi la temperaturi ridicate (37°—38°C), nepermisive. Mutanţi *ts* au fost descrişi la numeroase virusuri animale şi la bacteriofagi.

Mutaţia *ts* poate surveni în numeroase gene diferite şi dă naştere la mutanţi defectivi (prin substituirea unei singure perechi de baze) ceea ce determină apariţia unei alterări în secvenţa aminoacizilor într-o proteină virală esenţială pentru menţinerea funcţionalităţii în condiţiile nepermise (polipeptidul respectiv devine inactiv la temperatura nepermisivă). Este o mutaţie prin greşeală („*missense mutation*").

— Mutanţii *hr* (*host-range*; spectrul de gazde receptive) sînt capabili de replicare şi formează plaje în unele tipuri de celule, denumite permisive, și determină o infecție abortivă în alte tipuri de celule, nepermisive. Mutația *hr* constă într-o alterare a secvenței bazelor din acidul nucleic care este „citită" (transcrisă în mRNA) de către celula nepermisivă drept stop-codon („*non-sense-codon*") ceea ce induce terminarea polipeptidului în acel situs al mutației și ca urmare se produce o infecție abortivă. Este o „*non-sense mutation*".

---

* **Gazul muştar (yperita), betapropiolactona, etilenimine, epoxizi.**

Asemenea mutații survenite în genomul fagului sînt *mutația „ambră"* (UAG) și „ocru" (UAA) și rezultă în terminarea prematură a lanțului peptidic în cursul translației mRNA în celula gazdă nepermisivă. Terminarea lanțului peptidic datorită mutației „ambră" sau „ocru" este reversibilă prin intervenția unui „nonsense supressor" codificat de o genă gazdă („gena supressor") care induce translația codonilor nonsens UAG și UAA ca aminoacizi și prin aceasta restaurează ciclul viral productiv în celule gazdă permisive.

— Alt tip de mutanți *hr*, descriși și pentru sistemul fag-bacterie, sînt aceia care induc capacitatea de a înfrînge rezistența unei celule gazdă mutată spre rezistență la virus prin modificări structurale sterice a receptorilor care mijlocesc atașarea.

Mecanisme similare intervin foarte probabil și în *mutația hr* la virusuri animale. „Permisivitatea" anumitor celule sau țesuturi la producția de particule DI poate fi responsabilă de localizarea anumitor boli virale, de variația virulenței unui virus față de gazde diferite ca și de modificarea ciclului acut productiv în infecție persistentă cronică-ciclică cu schimbarea dramatică a tabloului clinic.

Mutații se pot produce în *gene de control* (mutații cantitative sau pleiotrope) sau în *gene structurale* (mutații calitative) ; pot fi *punctiforme* (interesînd un nucleotid sau un codon), o genă sau mai multe gene.

Mutațiile sînt o sursă importantă pentru diversificarea genotipului : cele avantajoase se rețin și, corelativ, scad acele dezavantajoase. La un moment dat se realizează un echilibru între mutație și selecție și gene mutante, chiar dăunătoare, sînt reținute.

(*ii*) *Agenții mutageni* cei mai utilizați sînt :

1) Analogi ai bazelor DNA, activi în cursul replicării DNA, ca de exemplu 5-bromouracil care înlocuiește timina în DNA și se leagă apoi cu guanina cauzînd două tipuri de erori de împerechere și prin aceasta de mutații.

2) Substanțe care alterează chimic DNA în repaos ca de exemplu *acidul nitros* care dezaminează oxidativ adenina în hipoxantină sau citozina în uracil determinînd prin aceasta înlocuirea A—T cu G—C sau, respectiv, G—C cu A—T.

3) Substanțe care elimină baze din DNA ca de exemplu etilen-etansulfonat care îndepărtează guanina (depurinare) ceea ce determină tranziția * G—C în A—T sau transversiile ** G—C în T—A sau T—A în G—C.

---

* „Tranziția" este înlocuirea unei pirimidine cu altă pirimidină sau a unei purine cu altă purină.

** „Transversia" este înlocuirea unei pirimidine cu o purină sau a unei purine cu o pirimidină.

Alte forme de modificare a structurii genei sînt *inserția, deleția, inversia* sau *transpoziția* de una sau mai multe perechi de baze sau nucleotide și combinații variate între acestea.

Agenţii mutageni fizici acţionează prin mecanisme moleculare similare. Mutanţi spontani sau induşi, caracterizaţi prin studiul a multipli markeri stabili, sînt evaluaţi cu privire la posibilitatea de a fi utilizaţi drept vaccinuri vii atenuate.

c). **Recombinarea genetică.** Infecţia mixtă a celulei cu două sau mai multe feluri de particule virale diferite în ceea ce priveşte genotipul (mutanţi parentali) pot interacţiona (vezi tabel 105) dînd naştere la descendenţi (recombinanţi) stabili care să posede o altă combinaţie a caracterelor derivate de la ambii părinţi.

Evenimentele moleculare care conduc la recombinarea genetică constituie fenomenul de *încrucişare reciprocă* (*crossing-over*) adică schimbul reciproc de segmente aflate în poziţii simetrice pe cele două genome parentale.

Două mecanisme au fost postulate a fi la baza recombinării la virusuri: (i) *modelul copiere alternativă* (*copy-choice*) în care replicarea ADN sau ARN decurge întîi după o moleculă parentală şi, de la un punct, se continuă după cealaltă moleculă parentală; (ii) *modelul rupere-reunire* care nu necesită prezenţa replicării acidului nucleic şi constă în ruperea a părţi sau segmente din cromozomul unui părinte şi reunirea lor în aceeaşi sau altă ordine cu cromozomul celuilalt părinte.

Există dovezi experimentale că singură ruperea-reunirea ar explica recombinările genetice. De exemplu, pornind de la virusuri gripale diferite se pot obţine recombinanţi care să posede hemaglutinina de la un părinte (H_3 de la A/HK/68) şi neuraminidaza de la al doilea părinte (Neql de la A/equi/Praga/57). Recombinanţi similari se obţin şi cu virusuri gripale de tip B.

Tabelul 105

Moduri de interacţiune a virusurilor animale

Mod de interacţiune	Starea virusurilor parentale	Prezenţa de progeni diferiţi	Progeni genetic stabili	Exemple
I. *Genetică*				
A. Recombinarea	activ + activ	da	da	virus gripal, poliovirus
B. Reactivare încrucişată	activ + inactiv	da	da	virus gripal
C. Reactivare de multiplicitate	inactiv + inactiv	da	da	virus vaccinal
II. *Negenetică*				
A. Mixaj fenotipic	activ + activ	da	nu	picornavirus
B. Mixaj genotipic	activ + activ	da	nu	paramyxovirus
C. Interferenţă	activ + activ	nu	da	Coxsackie virus
D. Intensificare	defectiv + activ	nu	da	v. satelit + adenovirus
	activ + activ	nu	da	Newcastle + paragripal
E. Complementare	activ + inactiv	nu	da	poxvirusuri
	activ + defectiv	nu	da	SV40 + adenovirus adenovirus + v. satelit ş.a.

Recent, prin infecţie mixtă s-a obţinut recombinantul X—53 care posedă două gene (hemaglutinina şi neuraminidaza) derivate de la virusul A/New-Jersey/11/76 şi alte şase gene moştenite de la A/PR/8/34 care conferă capacitatea de a multiplica intens în oul embrionat. Selecţia recombinanţilor cu antigenele de suprafaţă dorite şi cu capacitate de creştere rapidă se efectuează prin supresia fenotipului antigen extern PR_8 cu anti-ser omolog, urmat de pasajul virusului la diluţii înalte. Virusul selectat poartă antigenele externe (hemaglutinina şi neuraminidaza) virusului recent izolat, New Jersey//76, şi capacitatea de creştere intensă în sacul alantoidian ca urmare a încorporării de gene de la virusul îndelung adaptat la oul embrionat, PR/8/34.

Uşurinţa cu care se obţin recombinanţi la virusurile gripale, ţine de faptul că genomul este alcătuit din fragmente multiple (8) ceea ce permite reasortarea subgenomelor la descendenţi.

Alte forme de recombinări genetice sînt reactivarea încrucişată şi reactivarea de multiplicitate.

d) **Reactivarea încrucişată** („salvarea" markerului). Recombinarea are loc între două genome virale unul activ şi altul inactiv în aşa fel încît la recombinantul viabil şi stabil reapare un marker (sau mai mulţi) care era prezent numai la părintele inactivat. De exemplu, un virus gripal recombinant care posedă hemaglutinina H_3 de la virusul A/HK/68 şi capacitatea de a multiplica intens în oul de găină embrionat de la virusul gripal A/PR//8/34.

Asemenea recombinanţi prezintă un interes deosebit pentru preparare de vaccinuri gripale şi antigene pentru serodiagnostic.

e.) **Reactivarea prin multiplicitate** cînd recombinarea între două sau mai multe genome inactivate rezultă în apariţia unui recombinant viabil şi stabil (ex. virus vaccinia).

f). **Interacţiuni negenetice.** Infecţia mixtă cu două sau mai multe virusuri diferite, situaţie care survine frecvent atît natural cît şi experimental, se poate solda şi cu alte varietăţi de interacţiune în care nu sînt implicaţi acizii nucleici (ca în interacţiunile genetice) ci produsele de expresie fenotipică a acestora.

(i) *Mixajul fenotipic* constă în asocierea fenotipului (capsidei) unui virus cu genotipul (genoforul) altui virus. A fost descris la picornavirus: genomul poliovirus încorporat în capsida de virus Coxsackie. Asemenea particule sînt neutralizate de serul imun anti-Coxsackie şi se ataşează de receptorii celulelor receptive pentru acest virus. Progenii nu sînt stabili deoarece după liberarea acidului nucleic celula sintetizează poliovirus conform informaţiei conţinută în genom, progenii fiind neutralizaţi numai de serul anti-poliovirus.

(ii) *Mixaj genotipic* sau heterozigozis constă în incorporarea a două genome diferite într-o singură capsidă sau înveliş fapt raportat la paramyxovirusuri, togavirusuri, oncornavirusuri. Nu este o modificare stabilă genetic.

(iii) *Interferenţa* constă în inhibarea multiplicării unui al doilea virus datorită prezenţei în celulă a infecţiei cu un prim virus. Fenomenul este mediat fie de interferon fie de modificarea de către primul virus a receptorilor sau a căilor metabolice care devin astfel inaccesibile celui de-al doilea virus. (vezi cap. XLII).

(iv) *Intensificarea*, inversul interferenței, este creșterea producției de un virus prin suprainfectarea celulei cu alt virus, fenomen pus pe seama blocării sintezei de interferon de către al doilea virus. Astfel suprainfecția cu virus paragripal declanșează sau intensifică producția de virus Newcastle în celule inițial infectate cu acest virus.

(v) *Complementarea* este interacțiunea funcțională inter- sau intracistronică prin care virusul „helper", furnizînd produse ale unor gene lipsă, ajută maturarea virusului defectiv sau inactiv :

— Adenovirusul și virusul său satelit (asociat). În unele tulpini de adenovirus, alături de particule avînd diametrul 70—85 nm și care corespund adenovirusului există și particule icosaedrice mici cu diametrul 20 nm și care reprezintă virusul adeno-satelit. Deși cantitatea de DNA al satelitului este suficientă pentru a funcționa autonom (3.5×10^6), virusul nu se poate matura decît prin infecția simultană a celulei gazdă cu adenovirusul helper care îl complementează.

— Situația inversă este ilustrată de relația între virusul sarcomului Rous (RSV) și virusurile sale asociate. Unele tulpini defective de RSV (ex. : tulpina Bryan) cauzează transformarea celulelor dar nu sînt capabile, singure, să inducă virus matur, infecțios (ciclu productiv complet). Dacă simultan are loc infecția cu un virus helper (și sînt aproximativ 50 asemenea virusuri în grupul leucovirusuri aviare), acesta furnizează învelișul necesar maturării și eliberării de RSV. Genomul RSV este învelit într-un peplos cu antigene caracteristice virusului helper și prin aceasta se modifică și spectrul de gazde receptive.

— Relația fibroma-myxoma. Stimularea de către poxvirusul activ (fibroma) a decapsidazei celulare care eliberează genomul virusului inactiv (myxoma) și care astfel declanșează infecția productivă.

2. GENETICA POPULAȚIILOR VIRALE

În contrast cu genetica moleculară care a făcut progrese mari în domeniul analizei genetice la bacterii și virusuri, genetica populațiilor este mult mai dezvoltată pentru organismele superioare (animale, plante).

Situația se datorește dificultății identificării markerilor genetici pe un număr semnificativ statistic de unități virale evoluînd în condiții experimentale sau, cu atît mai mult, în interacțiune cu mediul ecologic natural.

Mutația, recombinarea și interacțiunile negenetice răsună în domenii ecologice foarte variate cum sînt evoluția speciilor de virus, diferențierea de tulpini cu caractere modificate, modificarea relației virus-celulă cu schimbarea tipului de infecție celulară, transformarea celulară etc.

Mutația, prin diversificarea genotipului *, furnizează „materia primă" pentru evoluție care prin *selecție* modelează genotipuri ajustate la condițiile concrete de dezvoltare a speciilor.

---

* *Genotip* : constituția genetică, întreaga informație genetică determinînd „norma de reacție" față de mediul ambiant, actuală și potențială, a indivizilor unei specii. *Fenotip* : proprietățile structurale și funcționale care se pot observa la un organism rezultînd din interacțiunea genotipului cu mediul în care se află.

Recombinarea prefigurează structuri genice noi, mai aproape de mediana tendinței evolutive, deci candidați cu șanse mărite de selecție.

Genomul * actual al unui virion concentrează în sine și reproduce prin multiplicare torentul de informație acumulat filogenetic, în cursul dezvoltării istorice a generațiilor premergătoare, la care adaugă experiența proprie, ontogenetică.

Procesele care stau la baza evoluției speciilor de virus, ca de pildă *mutația* și *selecția*, *shiftul*[1] și *driftul*[2] *antigenic*, *migrația populațiilor*[3] și *deriva genetică întîmplătoare*[4], *izolarea*[5] și *nidarea*[6] se regăsesc uneori cu destulă claritate, de exemplu la virusuri gripale, arbovirusuri etc., avînd la bază diversele forme de interacțiune genetică și negenetică descrise.

O evaluare cantitativă, cu eventuală expresie matematică, a asemenea procese complexe încă nu este posibilă. În descifrarea acestora singura cale fructuoasă este abordarea studiului de pe pozițiile dialecticii materialiste fenomenul fiind delimitat și tratat în unitatea celor două laturi contrare, interacțiunea dezvăluind astfel izvorul intern al mișcării (automișcării).

Studiul dinamic cantitativ al interrelației *virus gripal tip A — populație gazdă*, efectuat prin măsurarea modificărilor antigenice suferite în timp de hemaglutinina virală, pe de o parte, și de „gradientul" de imunitate indus în masa populației gazdă, pe de altă parte, constituie un exemplu elocvent în acest sens (vezi cap. XLVIII).

3. SINTEZA IN VITRO DE DNA VIRAL ȘI DE GENE (OPERONI). TRANSFER DE GENE VIRALE

Descoperirea enzimelor implicate în metabolismul acizilor nucleici (polimeraze, ligaze, endonucleaze, integraze) a făcut posibilă, în ultimii ani, sinteza și manipularea în laborator cu mare precizie a acizilor dezoxiribonucleici, depozitari ai informației genetice. Segmente DNA purtătoare de una nu mai multe gene pot fi excizate dintr-un cromozom și fixate în alt cromozom, aparținînd unui organism diferit.

---

* *Genom* : suma genelor unui organism.

[1] *Shift antigenic* : schimbare bruscă în frecvența unor gene ca de pildă înlocuirea unei hemaglutinine gripale prin una complet nouă : $H_2 \rightarrow H_3$ în 1968.

[2] *Drift antigenic* : modificarea intragenică la presiunea imunologică cu schimbarea configurației antigenice a hemaglutininei în cadrul aceluiași subtip : H_3/1969 → H_3/1976.

[3] *Migrația genetică* este transferul de informație genetică între populații prin deplasarea indivizilor sau grupelor de indivizi dintr-o populație (emigrare) în alta (imigrare).

[4] *Deriva genetică întîmplătoare* („random genetic drift") este pierderea completă a unor gene prin jocul întîmplării și fixarea altora, în populații mici, ca de pildă, în cursul replicării simultane a două virusuri în condiții neobișnuite (ex. virus gripal uman și virus gripal aviar). Unii încearcă să explice apariția noilor subtipuri pandemice de virus gripal uman prin importul de gene pentru hemaglutinine de la virusuri gripale aviare sau animale.

[5] *Izolarea* este restricția sau limitarea schimbului de informație genetică între grupe de populații virale datorită unor bariere spațiale (geografice, ecologice sau de habitat) sau temporale (ex. prevalențe sezoniere), avînd ca rezultat apariția de subtipuri, variante etc. (ex. : arbovirusuri).

[6] *Nidarea* este fenomenul prin care un mutant este capabil să utilizeze o „nișă ecologică" inaccesibilă formei parentale ceea ce duce la persistența și dezvoltarea mutantului chiar dacă este mai puțin viabil în nișa parentală. Se produc uneori variante antigenice complet noi de virus gripal uman (ex. B/Taiwan/64) care persistă un timp variabil în populații limitate, apoi dispar fără a fi determinat epidemii sau pandemii deși în populație nu existau anticorpi față de noua variantă.

a) **Sinteza de DNA viral infectant (biologic activ)** a fost posibilă folosindu-se drept matriţă o moleculă DNA monospirală şi circulară extrasă din fagul ΦX174 care conţine 5500 nucleotide (vezi fig. 219).

DNA polimeraza copiază spira (+) confecţionînd o spiră (—) complementară lineară pe care o DNA ligază, operînd legătura covalentă a celor două capete, o transformă în inel.

Se realizează astfel un DNA dubluspiral covalent circular, asemănător formei intermediare replicative care apare în cursul replicării intracelulare. Spira (—) sintetizată in vitro fiind mai densă (întrucît în locul timidinei s-a folosit drept bază acidul 5-bromodezoxiuridilic), devine posibilă separarea fizică a celor două spire prin ultracentrifugare. Acum, spira (—) serveşte de matriţă pentru confecţionarea *in vitro*, de către DNA polimerază şi folosind de astă dată baza normală (timidina), a unei noi spire (+) avînd acelaşi sens şi aceeaşi activitate biologică ca şi modelul iniţial, DNA viral ΦX174.

Sinteza in vitro a unei spire complementare folosind ca matriţă un polinucleotid natural pentru a ghida activitatea unei polimeraze bacteriene purificate a fost realizată atît pentru molecule RNA cît şi DNA monospiral din virusuri sau altă provenienţă.

b) **Sinteza genei** codificînd tRNA pentru tirozină *. Constă în sinteza in vitro a 39 fragmente scurte de DNA compuse din 10—15 nucleotide a căror capete sînt legate prin acţiunea DNA ligazei obţinîndu-se o singură structură DNA dubluspiral de 207 nucleotide care codifică tRNA pentru tirozină. (Gena structurală are 126 nucleotide la care se adaugă gena promotor de 56 nucleotide şi gena terminator, de 25 nucleotide).

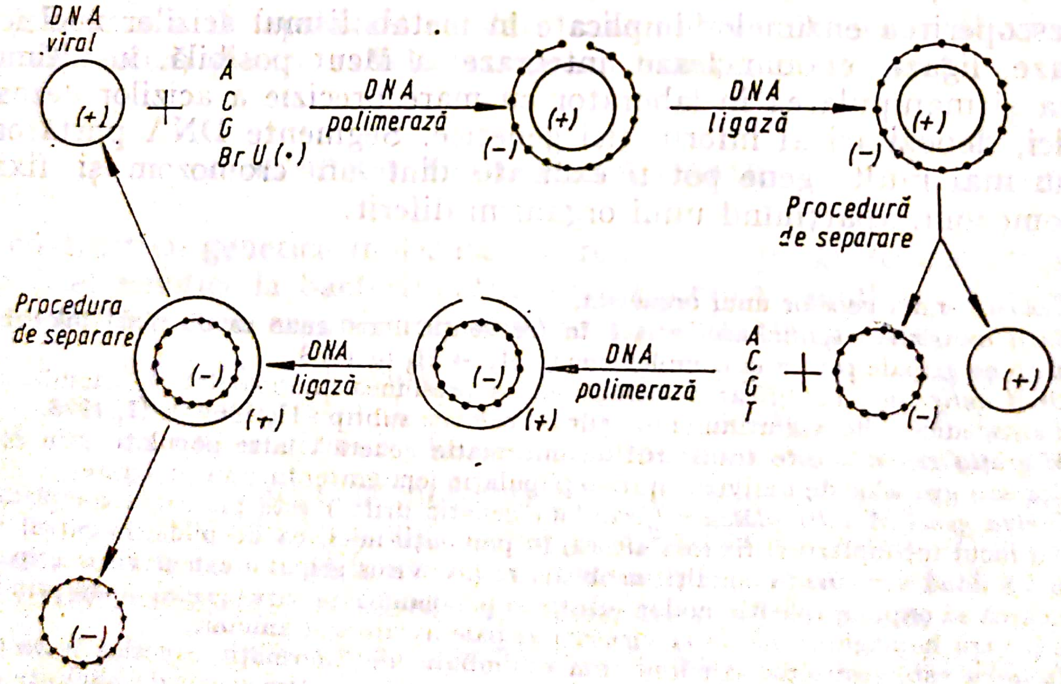


Fig. 219: Diagrama secvenţei proceselor de sinteză *in vitro* a DNA biologic activ. (după *Gulian*, *Kornberg* şi *Sinsheimer*)

---

* Realizată în 1976 în laboratorul lui *Har Gobind Khorana* la *Massachussetts Institute of Technology* ca fruct a 9 ani de muncă depusă de 24 cercetători. În 1972, Khorana a primit Premiul Nobel pentru descoperirea „endonucleazelor de restricţie", enzime-cheie pentru „ingineria genetică".

Gena nou sintetizată a fost încorporată într-un mutant de fag *lambda* deficitar în incorporarea tirozinei și care astfel a fost ,,vindecat'' deoarece, după integrare în E. coli, incorporează tirozina, deci gena a fost integrată și exprimată funcțional și replicată în progeni.

Corectarea defectelor genetice este deci posibilă prin sinteza și incorporarea genei lipsă în genomul deficitar.

c) **Transfer de gene între eucaryote și procaryote.** Gene naturale provenind de la organisme diferite sînt legate împreună * cu scopul de a se studia expresia lor fenotipică, pentru încercări de a se modifica sau corecta genomul sau pentru a se obține cantități mari de DNA.

Încorporarea ,,genei'' codificînd insulina într-o bacterie (E. coli K12) deschide perspectiva obținerii acestei proteine prin fermentație bacteriană și nu prin extracție, foarte costisitoare, din organe animale. Practic, a fost izolată gena insulină de șobolan și a fost introdusă în E. coli **. S-a demonstrat în prezent că fragmentul este și biologic activ : se exprimă fenotipic și se replică.

Stimulat de asemenea rezultate se încearcă introducerea de informație genetică în celule eucaryote cu scopul corectării defectelor metabolice genetice.

Direcțiile urmate de studiile cu acest scop folosesc tehnici inspirate de transducție *** virală, transformare[1], transfecție[2] și recombinare [3] (hibridizare).

Transducția de gene între celule de mamifere mediată de virus animal, analog transducției genei ,,lac'' de către fagul lambda la E. coli, a fost posibilă. Astfel, DNA aparținînd celulei rinichi de maimuță, încorporat în pseudovirioni [4] SV40 care acționează drept agent transducător, este introdus în nucleul celulei de embrion de șoarece; DNA de șoarece încorporat în pseudovirioni polyoma este introdus în nuclei de celule umane. Nu este încă demonstrat dacă fragmentele de DNA sînt integrate și exprimate fenotipic (similar transducției complete) ori au altă soartă.

---

* Asemenea experimente au fost (impropriu) denumite cercetări cu ,,DNA recombinant''

** Grupul condus de *H. Goodman* și *W. Rutter* de la *California Institute of Technology*.

*** *Transducție* : procesul prin care un fag temperat sau virulent mediază transferul de informație genetică (gene bacteriene) de la o bacterie (donator) la altă bacterie (receptor). În continuare, fragmentul donat poate fi : (i) *integrat* în genomul receptor conducînd la modificarea stabilă a genotipului cu transmiterea noilor caractere la descendenți (*transducție completă* sau *recombinativă* sau (ii) fragmentul DNA introdus poate funcționa în celula receptor (este transcris și translat) dar nu este replicat și de aceea este transmis uniliniar (unui singur descendent) în decursul a cîteva generații (*transducție abortivă*).

[1] *Transformare* : transferul intraspecific sau interspecific (între specii înrudite) de informație genetică prin intermediul fragmentelor de DNA ,,gol'' extracelular la bacterii. Spre deosebire de transducție, DNA neintegrat în genomul celulei receptor nu poate funcționa (nu exprimă fenotipic informația conținută). DNA monospiral modificat este mai ușor încorporat decît DNA dubluspiral nemodificat. Apariția de antigene ,,de suprafață'' (implantate în membrana celulei gazdă) virus-specifice ca urmare a activității în celulă a acizilor nucleici virali integrați în genomul gazdă constituie procesul analog de transformare a celulelor eucaryote.

[2] *Transfecție* : infecția productivă, abortivă sau latentă transformantă a celulelor cu acid nucleic izolat din virioni sau extras din celule infectate cu virus. Kinetica transfecției și transformării sînt întrutotul similare, primele stadii fiind identice.

[3] *Recombinare* : orice proces prin care rezultă descendenți (recombinanți) la care două sau mai multe gene se asociază într-o combinație nouă, diferită decît la părinți.

[4] *Pseudovirion* : capsida virală care a inclus acid nucleic gazdă în loc de viral. Morfologic seamănă cu virionul donator de capsidă ; se atașează la receptori și pătrund în celule gazdă însă nu pot să determine infecție virală.

Experimental, transducția eficientă completă a celulelor umane „*gal*⁻" (incapabile genetic de a sintetiza beta-galactozidază) provenind de la un pacient cu galactozemie a fost obținută cu ajutorul fagului lambda care a incorporat gena „*gal*" din E. coli „*gal*⁺". Celula receptor transdusă sintetizează enzima și o transmite descendenților.

De asemenea s-a demonstrat posibilă transformarea stabilă a celulelor de șoarece timidin-kinază (TK) negative (lipsite genetic de enzimă) în TK pozitive, genetic stabile timp de generații, prin transfecție cu DNA provenind din virus herpetic iradiat cu UV. Noua enzimă exprimată este antigenic TK virală deci gena virală este eficient integrată în genomul șoarece.

O altă cale de transfer de gene la eucaryote o constituie experimentele de *hibridizare in vitro* a celulelor (citohibridizare) provenind de la persoana cu deficit genetic cu celule de la un donator sănătos, urmat de selectarea celulelor care au reținut activitatea enzimatică necesară dar nu și antigenele de transplant ale donatorului. Asemenea clone celulare se implantează bolnavului cu speranța că (i) transplantul este tolerat imunologic (ii) gena va fi exprimată conform mecanismului de reglare al gazdei, (iii) nu au fost transferate și gene nedorite.

BIBLIOGRAFIE

1. BALTIMORE D.: Expression of Animal Virus Genomes. *Bacteriol. Rev.*, *35*, 3, 235–241, 1971.
2. FIELDS B.N.: Genetic manipulation of Reovirus — A Model for Moditication of Disease? *N. Engl. J. Med.*, *287*, 20, 1026–1033, 1972.
3. HASPEL M.V., RAPP F.: Measles Virus: An Unwanted Variant Causing Hydrocephalus. *Science*, *187*, 450–451, 1975.
4. HOGGAN M.D.: Adenovirus Associated Viruses. *Progr. Med. Virol*, *12*, 211–239, 1970.
5. KINGSBURY, D.W.: Replication and Functions of Myxovirus Ribonucleic Acids. *Progr. Med. Virol.*, vol. *12*, 49–77, 1970.
6. MAUGH T.H.: The Artificial Gene: It's Synthesized and it Works in Cells. *Science*, *194*, 44, 1976.
7. McGUIRE P.M., DUNLAP R.C., SHARP D.G.: Physical Markers of Change in a Virion Population During Passage. *J. Infect. Dis.* *127*, 3, 278–283, 1973.

8. PAGANO J.S.: Biologic Activity of Isolated Viral Nucleic Acids. *Progr. Med. Virol., 12*, 1—48, 1970.

9. PALESE P., RITCHEY M.B., SCHULMAN J.L., KILBOURNE E.D.: Genetic Composition of a High—Yielding Influenza A Virus Recombinant: A Vaccine Strain Against „Swine" Influenza. *Science, 194*, 334—335, 1976.

10. RAPP F., MELNICK J.L.: Papovavirus SV 40, Adenovirus and Their Hybrids: Transformation, Complementation and Transcapsidation. *Progr. Med. Virol., 8*, 349—399, 1966.

11. SMITH H.O., NATHANS D.: A Suggested Nomenclature for Bacterial Host Modification and Restriction Systems and Their Enzymes. *J. Mol. Biol., 81*, 3, 419—423, 1973.

12. TOBITA K., KILBOURNE E.D.: Genetic Recombination for Antigenic Markers of Antigenically Diferent Strains of Influenza B Virus. *J. Virol., 13*, 2, 347—352, 1974.

13. VOGT P.K.: Genetically Stable Reassortment of Markers During Mixed Infection With Avian Tumor Viruses. *Virology, 46*, 3, 947—952, 1971.

XLII. INTERFERENȚĂ. INTERFERONI

Infectarea aceleiași gazde (celulă, țesut) cu două virusuri diferite, înrudite sau tulpini cu genotipuri diferite ale aceluiași virus, poate fi urmată de :

(i) *multiplicarea ambelor virusuri* (ex. : virusul vaccinia în citoplasmă și virusul herpetic în nucleu ; adenovirus și SV40 în nucleu ; paramyxovirus 3 și NDV în citoplasmă) ;

(ii) *cooperare* sub formă de complementare, intensificare etc. (vezi cap. XLI și tabel 105) ;

(iii) *interferență*, proces în care virusul de suprainfecție este împiedicat să pătrundă sau să multiplice (*virus exclus*) într-o celulă deja infectată cu alt virus (*virus interferent*).

Fenomenul de interferență a fost demonstrat cu numeroase virusuri atît experimental, în culturi celulare, ouă embrionate sau animale de laborator, cît și în natură unde are corespondențe în patogeneza și epidemiologia virozelor.

Este explicat prin două mecanisme : (a) virusul inițial modifică receptorii celulei gazdă sau căile metabolice care devin astfel inaccesibile virusului următor (de ex. : orthomyxovirusul exclude paramyxovirusul ca urmare a distrugerii receptorilor celulei prin neuraminidază) ; sau (b) primul virus stimulează producția de *interferon* iar acesta inhibă producția celui de al doilea virus.

Interferența nu ține de procese imunitare (ex. : anticorpi).

Particulele de virus defectiv (DI) interferează sinteza de virus complet (*autointerferență*).

În practică, introducînd un virus poliomielitic atenuat într-o colectivitate în care începe să evolueze o epidemie, infecția cu virusul „sălbatec", virulent, este interferată.

Se încearcă, deocamdată fără rezultat, prevenirea în același mod a virozelor respiratorii epidemice.

Protecția conferită în acest fel este de scurtă durată și încetează de îndată ce sînt regenerați receptorii și alte produse celulare.

INTERFERONI

Celulele vertebratelor (om-animale-peşti teleosteeni *) infectate cu virus (ori stimulate de acizi nucleici străini sau de alte produse naturale sau sintetice, denumite *inductori*) sintetizează *interferoni* **, o clasă de proteine transferabile pasiv altor celule în care mediază un mecanism molecular de apărare celulară faţă de agresiunea ce ameninţă să-i tulbure homeostazia.

În culturi de celule sau la animalul de laborator infectate cu virus, la 12—48 ore după ce titrul virusului atinge un maximum, este sintetizat interferonul şi concomitent titrul virusului scade rapid, urmat de încetarea sintezei de interferon. Abia mai tîrziu, după cîteva zile, apar anticorpii antivirali.

Interferonul împreună cu *febra, scăderea pH-ului* celular şi *hipoxia* constituie factorii nespecifici de apărare care duc la *vindecarea* de infecţia virală la nivel celular sau al organismului infectat.

— Interferonul este o proteină cu gr. mol. de aproximativ 30 000 daltoni; ca urmare, este repede eliberat din celulă (înaintea virusului) şi difuzează în organism în fluidele extracelulare.

Proteina interferon este netoxică, acid-stabilă (pH : 2.0), nedializabilă, termorezistentă (50°—70°C), distrusă de enzime proteolitice. Factorii care scad producţia de virus (de ex. : încălzirea la 40°C a culturii de celule infectată) intensifică uneori producţia de interferon.

Există două tipuri de interferon în funcţie de celula producătoare :

(i) *interferon standard*, de tip I, fibroblastic sau de tip citokină, sintetizat de celule, altele decît limfoide şi (ii) *interferon leucocitar*, de tip II, o limfokină, sintetizat şi liberat de limfocite T mature imune la stimulare cu antigen omolog sau cu substanţe mitogene.

— Acţiunea protectoare a interferonului se exercită şi în beneficiul celulelor de altă specie decît a animalului sau ţesutului producător *** şi, indiferent de virusul sau agentul inductor, este eficientă faţă de virusuri (inclusiv virusurile oncogene RNA şi DNA).

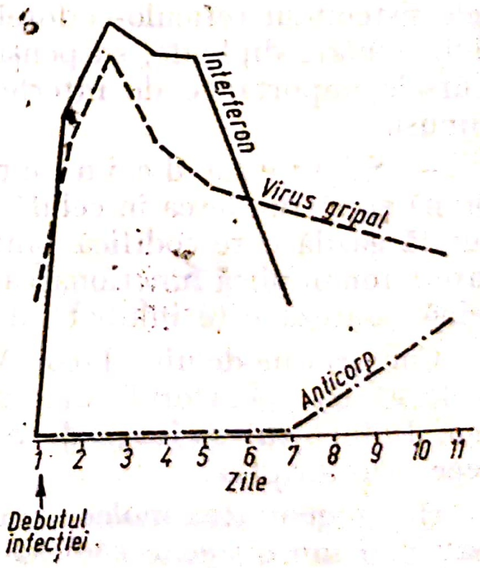


Fig. 220 : Producţia de interferon şi de anticorp circulant ca răspuns la infecţia cu virus gripal pe cale pulmonară la şoarecele alb. (*Isaacs, A.*)

Replicarea virusului nu este esenţială pentru producerea de interferon : (i) în *culturi de celule* se produce interferon după stimularea cu virus viu, virus uşor inactivat sau plinucleotide sintetice dubluspirale sau

---

* În 1962, Sela şi Appelbaum izolează din plante infectate cu virusul mozaicului tutunului (TMV) o proteină cu proprietăţi de prevenire şi limitare a infecţiei cu TMV.

** Descoperit în 1957 de Isaacs şi Lindenmann în cursul experimentărilor cu virus gripal inactivat prin iradiere cu UV, inoculat pe membrana corioalantoidiană.

*** Interferonul uman induce în celule bovine un grad de protecţie antivirală care este mai eficient decît acela indus în celule umane.

(ii) *în organism animal intact* după stimulare cu virusuri, ricketstii, endotoxine bacteriene, polimeri anionici sintetici sau polinucleotide.

— Inductorii de interferon cei mai puternici sînt produse conținînd *acizi ribonucleici dublu spirali* (RNA ds), prezenți în materialul inoculat fie ca element structural (ex. : reovirusul ; mycofagi * din Penicillium stoloniferum etc., care conțin RNA ds), fie apărînd ca intermediari replicativi ai virusurilor RNA monospirale (ex. : fagii MS—2 și MU—9 ai E.coli ; virusuri ale plantelor, insectelor etc.). RNA ds apar în cursul proceselor replicative și metabolice ale acizilor nucleici virali și celulari (procariote și eucariote).

Poliribonucleotide și homopolimeri anionici sintetici, pentru a fi inductori de interferon, trebuie să fie molecule dublu spirale complementare, cu legături covalente stabile în structura primară sau cu o structură secundară stabilă rezultată din împerecheri de baze cum este, de exemplu, complexul format de doi homopolimeri, acidul poliriboinozinic : acidul poliribocitidilic (*poly rI : poly rC*).

Și alți produși *sintetici* similari cum sînt *pyran* (copolimer de divinil-eter și anhidrida acidului maleic), *tiloron* (amină aromatică : bis-DEAE-fluorenone) sau *naturali*, extrași din streptomycete, cum sînt *Cycloheximida* și *Kanamycina*, stimulează producția de interferon.

Toate speciile de celule pot fabrica substanțe denumite interferoni. Deși toate celulele posedă gena pentru interferon, numai anumite celule îl produc în cantități mari.

Producătorii celulari de interferon cei mai activi sînt celulele sistemului reticulo-endotelial, fixe ori mobile, sub formă de culturi de linii celulare diploide, suspensii de limfocite umane, macrofage peritoneale. Sursele importante de interferon circulant sînt splina, ficatul, pulmonul, timusul.

— Sinteza de interferon este declanșată de absorbția pe membrană și pătrunderea în celulă a inductorului, ceea ce dereprimă gena structurală gazdă care codifică sinteza interferonului **. De aceea, sinteza de interferon implică funcționarea în celulă a sintezelor de mARN și de proteină (sinteza este inhibată de actinomycina D și puromycină).

Conform modelului Jacob-Monod, celula gazdă produce un represor care se leagă cu operatorul adiacent genei structurale pentru proteina interferon. Inductorul se leagă de represor și astfel decuplează operatorul și începe transcripția.

Heterogenitatea moleculară a interferonului sugerează existența a două (sau mai multe) gene codificînd pentru interferon : o clasă de interferoni, cu gr. mol. 8.5×10^4, este preformată în celulă și este liberată în decurs de 2 ore de la inocularea inductorului și altă clasă, cu gr. mol. $3-4 \times 10^4$, apare în ser după 18 ore.

---

* *Statolonul*, obținut din Penicillium stoloniferum este activ antiviral numai dacă ciuperca este infectată cu mycofagul RNA ds. La fel *helenina* din P. funiculosum.

** Producția de interferon uman necesită două locusuri genetice, unul situat pe cromozomul 2, altul pe cromozomul 5. Probabil primul este gena structurală iar al doilea codifică receptorul pentru inductor.

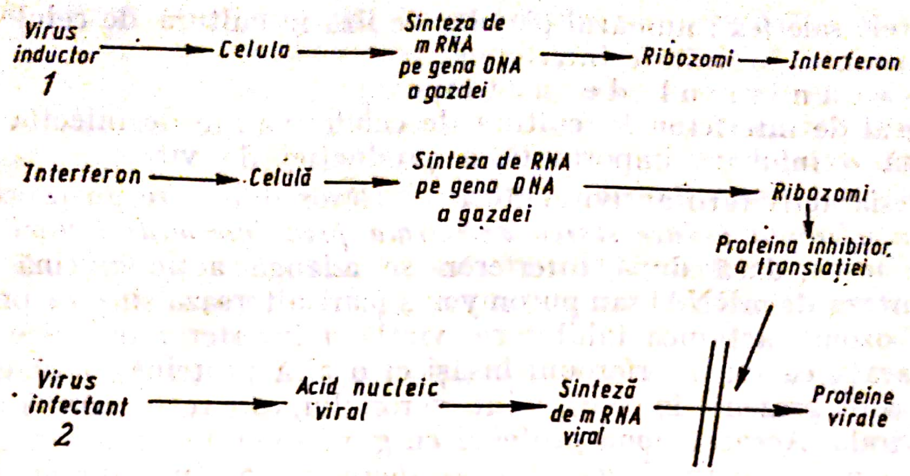

Virus inductor 1
Celula
Sinteza de m RNA pe gena DNA a gazdei
Ribozomi
Interferon
Interferon
Celulă
Sinteza de RNA pe gena DNA a gazdei
Ribozomi
Proteina inhibitor a translației
Virus infectant 2
Acid nucleic viral
Sinteză de m RNA viral
Proteine virale

Fig. 221 : Diagrama sintezei (1) şi modului de acţiune (2) a interferonului.

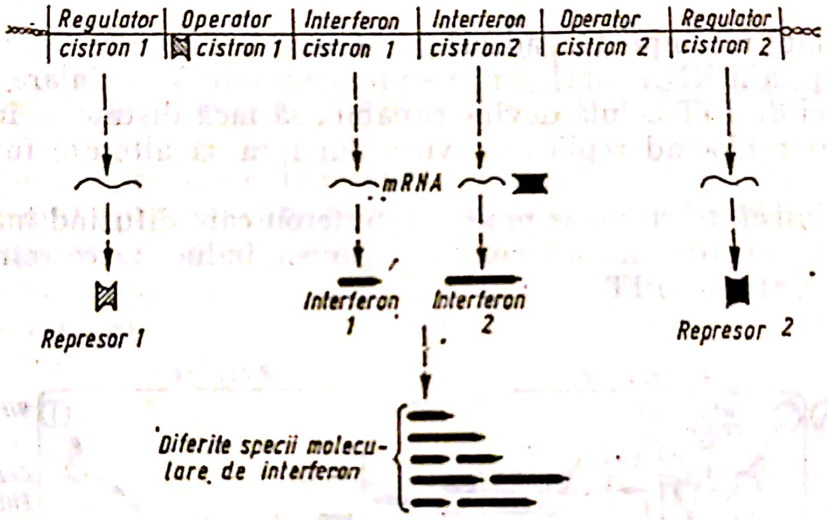

Regulator cistron 1
Operator cistron 1
Interferon cistron 1
Interferon cistron2
Operator cistron 2
Regulator cistron 2
mRNA
Represor 1
Interferon 1
Interferon 2
Represor 2
Diferite specii moleculare de interferon

Fig. 222: Schemă ipotetică, bazată pe modelul Jacob-Monod, privind sinteza de specii moleculare diferite de interferon. (*Grossberg, S.E.*)

Molecula de interferon uman este compusă din două părţi, fiecare reprezentînd un produs genic separat: — partea „constantă" pe care se află sediul homospecific este comună la toţi interferonii umani şi — porţiunea „variabilă" responsabilă de heterogenicitate. Interferonii umani diferiţi sînt produse a gene distincte care posedă însă în comun activitatea biologică (funcţii antivirale).

Cele două specii de interferon uman, interferon produs de *leucocite* şi cel produs de *fibroblaşti,* diferă fizicochimic şi imunologic. Diferenţele antigenice ar ţine de diferenţe în componenţa carbohidrat sau/ şi de o modificare structurală post-translaţională.

Stimularea repetată cu inductor duce la scăderea cantităţii de interferon.

Interferonul se titrează prin determinarea celei mai mari diluţii a preparatului de testat care reduce cu 50% faţă de martor multiplicarea virală sau efectele sale (ex : numărul plajelor de liză în cultura de celule), diluție care reprezintă „o unitate interferon''.

— Mecanismul de acțiune

Adaosul de interferon la cultura de celule înainte de infecția cu virus determină o inhibare importantă a producției de virus.

Expresia activității antivirale* a interferonului este un proces în doi timpi : *interferonul induce starea antivirală prin intermediul unei alte proteine.* De aceea, dacă după interferon se adaugă actinomycină D (care inhibă sinteza de mRNA) sau puromycină (care alterează sinteza proteinelor pe poliribozom), acțiunea inhibitorie virală a interferonului este anulată. Aceasta arată că nu interferonul însăși ci o altă proteină, a cărei sinteză este indusă de prezența în celulă a interferonului, este responsabilă de acțiunea antivirală. Această nouă proteină cu g.m. 48.000 sintetizată prin derepresia altei gene structurale gazdă a fost denumită *proteina inhibitor a translației* (PIT) deoarece, prin legarea la ribozomii celulari, împiedică translația mRNA virali, fără să altereze însă translația în proteine a mRNA ai celulei gazdă.

Interferonul nu împiedică adsorbția, pătrunderea, decapsidarea virusului sau transcripția mRNA viral și nici sinteza proteinelor celulare : prin inducerea sintezei de PIT celula devine capabilă să facă distincție între mRNA viral și celular blocînd replicarea virusului fără să altereze funcțiile celulare.

Celulele infectate cu virus produc interferon care difuzînd înaintea virusului la alte celule din cultură sau din organism induc starea refractară prin intermediul sintezei PIT.

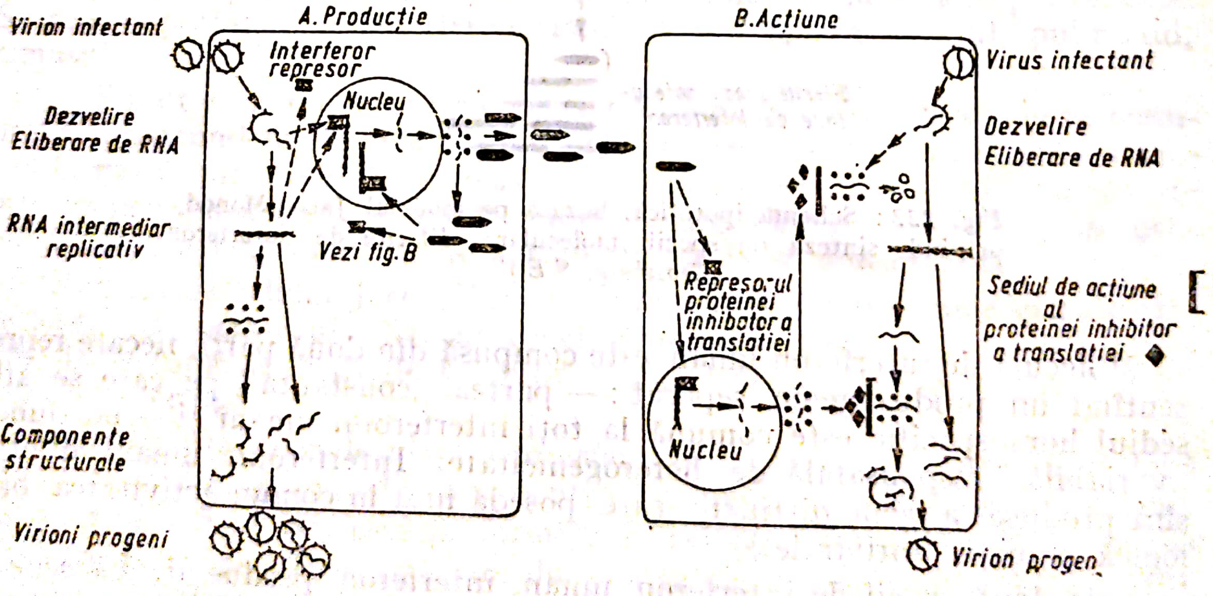

A. Producție
Virion infectant
Interferon represor
Nucleu
Dezvelire
Eliberare de RNA
RNA intermediar replicativ
Vezi fig. B
Componente structurale
Virioni progeni
B. Acțiune
Virus infectant
Dezvelire
Eliberare de RNA
Represorul proteinei inhibitor a translației
Sediul de acțiune al proteinei inhibitor a translației
Nucleu
Virion progen

Fig. 223 : Reprezentare schematică a proceselor producției (*A*) și acțiunii (*B*) interferonului raportate la fazele infecției virale.
A : Forma replicativă RNA viral dubluspiral este inductorul producției de interferon prin derepresia genei structurale gazdă ;
B : Acțiunea antivirală a interferonului se exercită prin derepresia sintezei proteinei inhibitor a translației mesajului viral.
(*Grossberg, S.E.*)

---

* Expresia activității antivirale a interferonului în celule umane este dependentă de doză pe un locus situat pe cromozomul 21 care codifică, probabil, receptorul pentru interferon.

— Proprietăţile antivirale ale interferonului sînt explorate în vederea folosirii sale în profilaxia sau terapia virozelor.

Interferonul exogen, obţinut din culturi *in vitro* de limfocite umane stimulate, administrat înainte de infecţie s-a demonstrat capabil să prevină sau să reducă severitatea unor infecţii virale ca de pildă vaccina cu tendinţă la generalizare şi infecţia gripală la adult sau infecţia cu citomegalovirus la copil.

Nu se pot însă prepara cantităţi suficiente de interferon uman*. Tehnicile actuale permit purificarea relativă şi concentrarea interferonului pînă la cca 2 × 10^6 unităţi/ml.

Stimularea *interferonului endogen* cu inductor, natural sau sintetic, verificat riguros în ceea ce priveşte inocuitatea, aplicat local sau general, constituie o a doua posibilitate experimentală de valorificare a proprietăţilor sale protectoare.

— Funcţiile biologice ale interferonilor, de reglare a capacităţilor acizilor nucleici străini, şi chiar a unor acizi nucleici homologi, de a determina produşi de sinteză moleculară în celulă, prezintă un interes considerabil în legătură cu rolul jucat de interferon în dezvoltare (diferenţiere celulară, creştere) şi homeostazie (imunopotenţare, imunosupresie, transformare).

Stimulii pentru producţie de interferoni sînt aşa de diverşi şi de numeroşi încît sistemul apare cu caracteristica unui mecanism universal de recunoaştere şi apărare la nivel celular.

Un mecanism de control puternic menţine în represie producţia de interferon care este operată doar intermitent, la comandă precisă, ceea ce sugerează că nu toate efectele interferonului sînt lipsite de nocivitate.

Dereglări ale mecanismului de control al producţiei de interferon sînt asociate cu anumite boli grave, chiar de natură malignă ; modele anormale de producere şi de acţiune a interferonului se găsesc în infecţii virale persistente (ex. : *scrapie*). Dereglarea mecanismului de control al interferonului are ca rezultat modificarea infecţiei productive, litice, dată de virusul stomatitei vesiculare, virus herpetic sau oncornavirus într-o infecţie cronică-ciclică, abortivă sau persistentă.

Producţia de virus alternînd, echilibrat, cu sinteză de interferon ar putea explica transformarea unei infecţii virale acute productive într-o infecţie cronică-ciclică.

Pe de altă parte, în infecţii virale cronice ca de exemplu hepatita B cronică agresivă sau în hepatita A şi în infecţia cu CMV în care nu s-a pus în evidenţă interferon circulant, tratamentul cu interferon ar putea induce ameliorări şi chiar vindecări.

Interferonul are perspective de a fi transformat într-un sistem eficient de tratament al infecţiilor virale şi, posibil, al tumorilor umane.

---

* Sinteza *in vitro* a interferonului biologic activ s-a demonstrat posibilă într-un mediu fără celule obţinut din celule de şoarece la care s-a adăugat mRNA extras din fibroblaşti umani induşi (trataţi cu inductor de interferon).

BIBLIOGRAFIE

1. GATMAITAN B.G., STANLEY E.D., JACKSON G.G.: The Limited Effect of Nasal Interferon Induced by Rhinovirus and a Topical Chemical Inducer on the Course of Infection. *J. Infect. Dis.*, *127*, 4, 401–407, 1973.
2. GLASGOW L.A.: Interrelationship of Interferon and Immunity During Viral Infections. *J. gen. Physiol.*, *56*, 212 s., 1970.
3. GROSSBERG S.E.: The Interferons and Their Inducers: Molecular and Therapeutic Considerations. *N. Engl. J. Med.*, *287*, 13–19; 79–85; 122–128, 1972.
4. RASMUSSEN L.E., JORDAN G.W., STEVENS D.A., MERIGAN T.C.: Lymphocyte Interferon Production and Transformation after Herpes Simplex Infections in Man. *J. Immunol.*, *112*, 728–736, 1974.
5. RYTEL M.W., BALAY J.: Impaired Production of Interferon in Lymphocytes from Immunosuppressed Patients. *J. Infect. Dis.*, *127*, 4, 445–449, 1973.
6. VALLE M.J., BOBROVE A.M., STROBER S., MERIGAN T.C.: Immune Specific Production of Interferon by Human T Cells in Combined Macrophage-lymphocytes Cultures in Reponse to Herpes Simplex Antigen. *J. Immunol.*, *114*, 1, pt. 2, 435–441, 1975.
7. WIKTOR T.J., KOPROVSKI H., MITCHELL J.R., MERIGAN T.C.: Role of Interferon in Prophylaxis of Rabies after Exposure. *J. Infect. Dis.*, *133*, Suppl. June., A. 260, 1976.
8. WORTHINGTON M., BARON S.: Effect of Polyriboinosinic-polyribocytidylic Acid and Antibody on Infection of Immunosuppressed Mice with vaccinia Virus. *J. Infect. Dis.*, *128*, 308–311, 1973.

XLIII. CHIMIOTERAPIA ŞI CHIMIOPROFILAXIA INFECŢIEI VIRALE

Experimental este posibilă prevenirea sau oprirea infecţiei virale la nivel celular sau al organismului cu ajutorul unor substanţe chimice (altele decît anticorpi sau vaccinuri), active fie prin inhibarea unor procese de sinteză a componentelor virale (acid nucleic, proteine structurale sau funcţionale), fie prin inhibarea adsorbţiei, pătrunderii sau dezvelirii virionilor ori a eliberării virusului infectant din celule (fig. 224).

Chimioterapia virozelor la om este limitată de următoarele situaţii: (i) Relaţia foarte strînsă între sinteza virusurilor şi sintezele celulare gazdă de unde dificultatea de a se obţine droguri care să inhibe selectiv sinteza de virus fără să modifice sintezele gazdă (vezi *Interferon*). (ii) Majoritatea substanţelor experimental active antiviral, prin alterarea sau interferarea metabolismului acizilor nucleici, induc şi apariţia de mutanţi defectivi (particule DI)

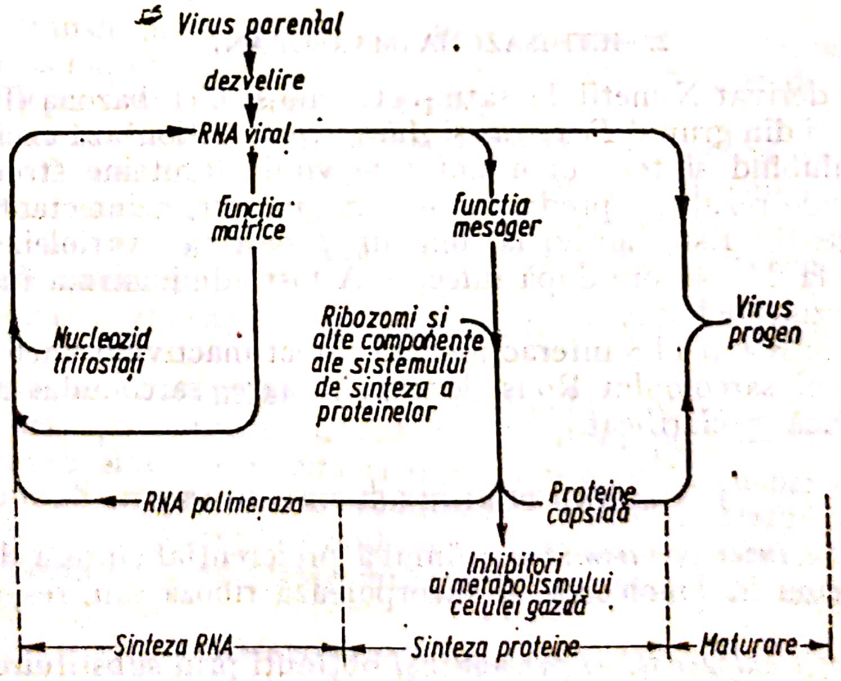

Virus parental
dezvelire
RNA viral
functia matrice
functia mesager
Nucleozid trifosfati
Ribozomi si alte componente ale sistemului de sinteza a proteinelor
Virus progen
RNA polimeraza
Proteine capsida
Inhibitori ai metabolismului celulei gazda
Sinteza RNA
Sinteza proteine
Maturare

Fig. 224: Diagramă reprezentînd structuri şi funcţii implicate în replicarea unui virus. O substanţă antivirală trebuie să inhibe selectiv sinteze codificate de virus fără să altereze pe acele ale gazdei.

implicaţi în transformarea infecţiei acute în infecţie cronică persistentă şi în transformarea oncogenă. Alterări cu caracter similar pot fi determinate şi în celule neinfectate. De aceea, înainte de aplicarea sistemică la om a drogurilor care au fost reţinute drept candidaţi, se impune evaluarea riguroasă a eficacităţii, toxicităţii, oncogenităţii şi teratogenităţii. (iii) În faza cînd simptomele indică evoluţia unei infecţii virale de cele mai multe ori virusul a difuzat în întreg organismul şi a produs deja leziuni celulare considerabile. (iv) Ţinînd seama de toxicitatea mare a substanţelor antivirale cunoscute la concentraţiile active, nu se justifică administrarea acestor produse fără confirmarea diagnosticului clinic prin teste de laborator. Crearea condiţiilor pentru *diagnosticul de laborator precoce şi rapid* al infecţiilor virale este o premiză necesară şi realizabilă pentru valorificarea în clinică a substanţelor antivirale şi implicit evitarea utilizării — inutilă, costisitoare, dăunătoare — antibioticelor antibacteriene în viroze.

Substanţele cu acţiune specific antivirală sînt foarte diferite *ca mecanism* de acţiune, *ca fază* din ciclul infecţiei virale în care intervin şi *ca selectivitate* în diferenţierea între procese dirijate de virus şi procesele normale ale celulei gazdă.

1. GUANIDINA (G) şi 2-(a-HYDROXYBENZIL)-BENZIMIDAZOL (HBB)

(HBB) inhibă specific replicarea in vitro a multor *picornavirusuri* prin inhibarea acţiunii RNA (după ce a fost sintetizat) şi astfel blocînd sinteza de RNA viral şi proteine capsidă. G şi HBB au mecanisme de acţiune similare dar nu identice deoarece, deşi uneori sînt sinergice, sînt virusuri inhibate doar de una dintre substanţe.

La animal sînt lipsite de efect protector datorită, probabil, uşurinţei cu care se dezvoltă mutanţi rezistenţi la drog şi chiar mutanţi dependenţi.

2. METHISAZONA (MARBORAN)

Este un derivat N-metil de isatin-beta-thio-semicarbazona (ITS) ; inhibă mulţi membri din grupul *Poxvirus* şi *Adenovirus*. Acţionează exclusiv asupra virusului inhibînd sinteza unor antigene virale (proteine structurale tardive*) de unde rezultă o producţie de virus imatur, neinfectant. Apar mutanţi rezistenţi. Este activ la om în *prevenirea* variolei, dacă este administrat la 24—48 ore după infecţie. A fost administrată în focare epidemice cu rezultate bune.

N-metil- şi N-etil-ITS interacţionează direct inactivînd unele oncornavirusuri (virusul sarcomului Rous, leucozei aviare, sarcomului murin) prin mecanism încă neclarificat.

3. ANALOGI PURINICI ŞI PIRIMIDINICI

Analogi purinici şi pirimidinici inhibă preferenţial sinteza de RNA sau DNA după cum în moleculă se incorporează riboza sau, respectiv, dezoxiriboza.

(i) *Derivaţii halogenaţi ai pirimidinei* obţinuţi prin substituirea atomului de H din poziţia 5 a uracilului cu brom sau fluor, datorită similarităţilor structurale se substituie timinei sau, respectiv, uracilului. De aceea *5-bromuracilul* (BU) este inhibitor activ al DNA-fagilor dar nu inhibă sinteza RNA (mozaicul tutunului) în timp ce *5-fluorouracilul* (FU) se comportă invers.

---

* Probabil prin modificarea de mRNA virali sintetizaţi tardiv şi care sînt astfel împiedicaţi a se combina cu ribozomi pentru a forma poliribozomi funcţionali.

(ii) *5-fluoro-2'-dezoxiuridina* (*FUDR*) inhibă sinteza DNA prin blocarea sintezei acidului timidilic.

5-bromo-2'-dezoxiuridina (*BUDR*) şi *5-iodo 2' dezoxiuridina* (*IUDR*) interferează sinteza de precursori şi, în plus, după convertirea în trifosfaţi, sînt incorporaţi în DNA în locul timidinei rezultînd acizi nucleici eronaţi pe seama cărora apar polipeptide nefuncţionale. Acţiunea antivirală se exercită asupra virusurilor DNA (pox-, herpes-, adeno-, papovavirus).

Sînt prea toxice (nu diferenţiază sinteza DNA viral de DNA celular) pentru utilizarea pe cale sistemică.

Aplicarea locală de IUDR în keratita herpetică are efect terapeutic.

În culturi de celule infectate cu papova- sau herpesvirus IUDR opreşte sinteza de virus complet dar nu şi a componentelor virale şi de virus incomplet care se acumulează în nucleu.

În culturi tratate cu BUDR şi alţi analogi apar mutanţi virali rezistenţi.

IUDR administrat celulelor puţin receptive înainte de infecţie intensifică multiplicarea virusurilor DNA (vaccinia, CMV, adenovirus) şi RNA (Sindbis, stomatitei vesiculare, encefalitei murine).

Pe de altă parte, este demonstrat că pirimidine halogenate induc DNA proviral al oncornavirusurilor integrat în genomul gazdă a celulei „normale" pentru a produce particule de oncornavirus tip C.

(iii) *Cytozina arabinoică* : *1 beta-D-arabinofuranosylcytozina hidroclorică* (Cytarabina, Ara-C, Cytosar) este alt analog pirimidinic care inhibă replicarea DNA virusurilor interferînd sinteza DNA (inhibă reducţia acidului citidilic în acid dezoxicitidilic). Este toxică pentru celule. Se utilizează în aplicaţii locale.

În celule transformate de virus SV40 şi adenovirus, cytarabina opreşte sinteza de virus matur (care necesită sinteza DNA) dar nu şi de antigene T (care este independentă de replicarea DNA viral).

(iv) *Adenina-arabinoică* (Vidarabina, Ara-A). Este activă *in vitro* şi *in vivo* faţă de DNA-şi RNA-virusuri, inclusiv oncornavirusuri, şi ar avea o toxicitate mai redusă. Este activă terapeutic în encefalita herpetică după administrarea pe cale intravenoasă, în special asociată cu imunoglobulină specifică (IgG anticorp).

Este folosită în aplicaţii locale în keratite cu virus herpetic, varicelic, vaccinia.

Bolile virale în care, sprijinit de diagnosticul de laborator al infecţiei, se poate considera oportunitatea utilizării derivaţilor purinici şi pirimidinici pe cale sistemică sînt : encefalita şi infecţia neonatală cu herpesvirus, infecţia congenitală simptomatică cu citomagalovirus, encefalita, pneumonia severă şi infecţia congenitală severă cu virus varicela-zoster. De asemenea, atunci cînd boala dată de aceste virusuri este asociată cu imunosupresie.

4. AMANTADINA hidroclorică
(Symmetrel)

Este o amină simetrică triciclică, inhibă pătrunderea în celulă şi dezvelirea unor myxovirusuri (ex. : virus gripal A dar nu şi virus gripal B). În doză orală de 200 mg/zi, începînd cu 3 zile înainte şi pînă la 7 zile după infecție, reduce incidența și severitatea bolii. Asociată cu vaccinul gripal îi mărește eficacitatea.

Are efecte secundare supărătoare, totuși ar putea fi administrat la persoane sau grupe delimitate de populație cu risc crescut de infecție gripală A și care au fost vaccinate recent (ex. : personal medical, bolnavi cronici)[*]. Experimental, se obțin mutanți de virus gripal rezistenți la amantadină.

5. RIBAVIRIN[**] (Virazole)

Este activ intracelular (inhibînd sinteza de acid nucleic) față de virusurile gripal, paragripal, Newcastle, rujeolic, respirator sincițial, stomatitei vesiculare. Administrat în aceleași condiții, ar fi mai eficient în prevenirea gripei (atît A cît și B) decît amantadina.

6. ISOQUINOLEINA

Isoquinoleina și derivații săi sînt dotați cu acțiune inhibitorie a neuraminidazei (sau a unei faze de dezvelire a virionului) ortho- și paramyxovirusurilor, de unde proprietăți antivirale *in vitro* și *in vivo*.

Acțiune inhibitorie competitivă a neuraminidazei au și derivații de *acid N-trifluoro-neuraminic*.

7. INACTIVAREA FOTODINAMICĂ

Virusurile cultivate în celule menținute în mediu conținînd proflavină, roș neutru sau acridinoranj[***] devin fotosensibile (deoarece colorantul fotoreactiv este încorporat în structura virusului) : expus la lumină obișnuită[****] sînt complet inactivate prin absorbția energiei luminoase.

Proflavina în soluție apoasă 0,1%, aplicată pe baza leziunilor herpetice (după ruperea vesiculelor) și expunere 15 minute la o sursă de lumină cu lungime de undă (450 nm) și energie (70—150 microwați/cm^2) adecvate, plasată la cca 25 cm distanță, are efect terapeutic favorabil în herpesul oral, genital, ocular, inclusiv eczema herpetică.

---

[*] „Se apreciază că chimioprofilaxia și terapia cu amantadină, așa cum este recomandată mai sus, ar costa o comunitate de 100,000 persoane aproximativ 1 milion de dolari pe an, sau zece dolari de persoană. Acest cost ar fi amortizat dacă gripa a fost prevenită la 0,1% din populație". (Grupul de experți NIAID, Bethesda, SUA, Dec. 1974. J. inf. Dis., 1976, *134*, 526).

După Tyrrell (1976), efectul terapeutic în gripă al amantadinei nu depășește pe acela al aspirinei.

[**] Nucleozid sintetic (1-β-ribofuranozil-1,2,4-triazol-3-carboxamida).

[***] *Acridine heterociclice* : proflavina, acridin oranj și antimalaricele Quinacrina și Chloroquina. *Compuși fenazinici* : roș neutru (puternic alergen de contact). *Proflavina* (3,6-diaminoacridina) este cel mai activ fotosensibilizator al virusurilor.

[****] Amestecul de proflavină-DNA absoarbe maximal undele luminoase în jurul a 450 nm care se află din abundență în lumina solară și aceea emisă de tuburile albe fluorescente ordinare. (Lămpile electrice incandescente sînt sărace).

Pentru roș neutru absorbția optimă este la 533 nm.

Studii recente (1976—1977) arată însă că fotoinactivarea prin tratare cu roș neutru și lumină sau iradiere cu UV conferă virusului herpetic proprietăți oncogene: celulele infectate persistent și transformate cu asemenea virus determină tumori la cca 50% din hamsteri sau șobolanii sugari inoculați. În consecință, terapia fotoinactivantă, ca dealtfel și vaccinurile cu virusuri herpetice, a fost suspendată ca metodă de rutină.

8. INHIBITORI UTILI PENTRU STUDIUL REPLICĂRII VIRUSURILOR

(i) *Mitomycina C* alterează legăturile (devin termostabile), între lanțurile complementare a matriței DNA care, astfel degradată, devine nefuncțională.

(ii) *Actinomycina D* (Dactinomycina) prin legare cu DNA celular inhibă neselectiv sinteza RNA pe matriță DNA (mRNA) de aceea este activă față de DNA virusuri, dar și oncornavirusuri și unele myxovirusuri.

(iii) *Rifamycina* și derivații inhibă selectiv, la anumite concentrații, RNA polimeraza bacteriană și virală responsabile de transcripție.

(iv) *Puromycina* eliberează precoce lanțul polipeptidic din complexul tRNA—mRNA, rezultînd polipeptide mai scurte, nefuncționale.

(v) *Cycloheximida* inhibă sinteza proteinelor pe ribozomii eucariotici dar nu și pe aceia procariotici.

(vi) *Proteina vegetală antivirală*, o lectină cu proprietăți mitogene și hemaglutinante izolată din cîrmîz sau rumeioară (în engl. *pokeweed*: *Phytolacca americana*), reduce cu 95% producția de poliovirus din celule HeLa prin inactivarea ribozomilor gazdă.

9. CHIMIOTERAPIE ANTIVIRALĂ ȘI IMUNOMODULARE

Între virusul invadant și mecanismele de apărare ale gazdei există un echilibru delicat, la care contribuția imunității mediată celular (IMC) este de primă importanță.

Or, țesutul responsabil de IMC, sistemul limfoid, este printre cele mai sensibile la acțiunile toxică și imunosupresivă a agenților antivirali pe de o parte și, pe de alta, adeseori însăși virusul infectant este un inhibitor al răspunsului imun.

Neglijarea acestor raporturi poate determina înclinarea balanței în favoarea virusului ca urmare a terapiei antivirale aplicată fără discernămînt.

În consecință, substanțele antivirale selectate pentru terapia unui bolnav trebuie 1) să nu modifice reactivitatea imună a gazdei și în special IMC, atunci

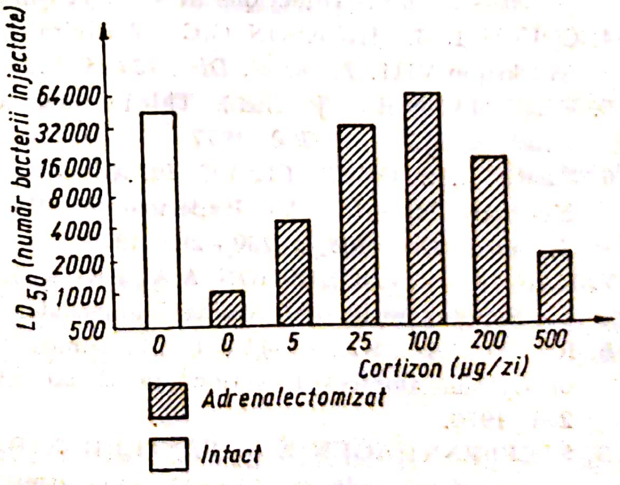


Fig. 225: Efectul cortizonului asupra infecției (pneumococice) la șoarece.

Șoarecii adrenalectomizați sînt susceptibili la infecție. Administrarea de cortizon în doze moderate restaurează parțial rezistența animalului adrenalectomizat. Dozele mai mari îl fac din nou foarte susceptibil. (*Kass, E.H.*)

cînd aceasta este normală, 2) să o intensifice dacă aceasta este deprimată și numai atîta timp cît este deprimată și 3) să o deprime numai atunci cînd survin leziuni importante care țin de hiperreactivitatea IMC și care amenință să compromită vindecarea. Asemenea stări se pot succeda în cursul infecției virale.

Exemple de antivirale cu acțiune de imunopotențare : (i) *Inosiplex* (*Isoprinosina*)* are acțiune terapeutică antivirală *in vivo* față de rhinovirus, virus gripal A și herpesvirus prin proprietăți de antimetabolit legate de porțiunea purinică, dar mai ales prin proprietăți de imunopotențiator (mărește numărul de celule imunocompetente și intensifică transformarea blastică a limfocitelor) (ii) *Levamisol*, levoisomer de tetramisol, a fost inițial utilizat ca agent antihelmintic, apoi s-a văzut că are proprietăți de imuno-potențiator și, recent, s-a demonstrat a fi și antiviral în infecție herpetică, gripală, cu rhinovirus, virus aftos. Ameliorează, datorită acestor calități, infecțiile bacteriene cu patogeni intracelulari cum sînt brucella, listeria, pseudomonas.

Chimioterapia virozelor trebuie să se bazeze pe diagnosticul etiologic de laborator precoce al infecției și pe măsurarea reactivității imunitare a bolnavului, ceea ce necesită evaluarea prin teste *in vitro* (vezi cap. XLVII și L).

BIBLIOGRAFIE

1. BRIER A.M., WOHLENBERG C., ROSENTHAL J., MAGE M., NOTKINS A.L. : Inhibition or Enhancement of Immunological Injury of Virus Infected Cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, *68*, 3078, 1971.
2. CHO C.T., LIU C., VOTH D.W., PENG K.K. : Effects of Iodoxuridine on Herpesvirus Hominis Encephalitis and Disseminated Infections in Marmosets. *J. Infect. Dis.*, *128*, 6, 718—723, 1973.
3. CH'IEN L.T., CANNON N.J., CHARAMELLA L.J., DISMUKES W.E., WHITLEY R.J., BUCHANAN R.A., ALFORD C.A. Jr. : Effect of Adenine Arabinoside on Severe Herpesvirus Hominis Infections in Man. *J. Infect. Dis.*, *128*, 5, 658—663, 1973.
4. COUCH R.B., JACKSON G.G. : Antiviral Agents in Influenza. Summary of Influenza Workshop VIII. *J. Infect. Dis.*, *134*, 5, 516—527, 1976.
5. HERRMANN E.C. Jr. (Ed.) : Third Conference on Antiviral Substances. *Ann. New York Acad. Sci.*, *284*, 1—720, 1977.
6. KERN E.R., OVERALL J.C. Jr., GLASGOW L.A. : Herpesvirus Hominis Infection in Newborn Mice. I. An Experimental Model and Therapy with Iododeoxyuridine. *J. Infect. Dis.*, *128*, 3, 290—299, 1973.
7. MANKAD V.N., GERSHON, A.A., BRUNELL P.A. : Inhibition of Oral Shedding of Herpes Simplex Virus by Cytosine Arabinoside. *J. Infect. Dis.* *127*, 4, 442—444, 1973.
8. RYTEL M.W., KAUFFMAN H.M. : Clinical Efficacy of Adenine Arabinoside in Therapy of Cytomegalovirus Infections in Renal Allograft Recipients. *J. Infect. Dis.*, *133*, 2, 202, 1976.
9. STEFFENNHAGEN K.A., EASTERDAY B.C., GALASSO, G.J. : Evaluation of 6-Azauridine and 5-Iododeoxyuridine in the Treatment of Experimental Viral Infections. *J. Infect. Dis.*, *133*, 6, 603—612, 1976.
10. WEHRLI W., STAEHELIN M. : Actions of Rifamycins. *Bacteriol. Rev.*, *35*, 3, 290, 1971.

---

* Complexul molar 3 : 1 de N-N-dimetilamino-2-propanol, p-acetamidobenzoat și inosină.

XLIV. ONCOGENEZA VIRALĂ. VIRUSURI ONCOGENE

Unii membrii ai grupelor pox-, herpes-, adeno- și papovavirus, dintre DNA-virusuri, și oncornavirusurile (leucovirusuri), dintre RNA-virusuri, au proprietatea de a transforma celule gazdă pînă la starea de malignitate, experimental sau și în natură.

Prima boală neoplazică, sarcomul găinilor, a fost descrisă la începutul secolului de *Peyton Rous*, care, în 1911, izolează virusul : *Rous sarcoma virus* (RSV). Abia în ultimii cîțiva ani însă se dezvoltă studiul mecanismelor oncogenezei și a fost descoperită etiologia virală a numeroase tumori și leucemii la animale, ca urmare a progreselor tehnologiei culturilor celulare, utilizării de animale de experiență cu constituție genetică definită și constantă, pe baza aplicării metodelor cantitative actuale de cercetare biofizică, biochimică, imunologică și în special bazat pe descoperirea, în 1970, a reverstranscriptazei asociată virionului oncornavirus (vezi cap. XXXVII).

În ultimii ani cercetările au adus primele dovezi că virusuri și mecanisme similare de oncogeneză sînt implicate și în tumori umane.

A. CARACTERISTICI ALE ONCOGENEZEI VIRALE

— Neoplazia virală se dezvoltă cel mai adesea ca o clonă, o populație de celule care descinde dintr-o singură celulă de origine, un progenitor (mutant viabil) cu caractere moștenibile schimbate spre anarhie față de procesele regulatorii care mențin homeostazia țesutului*.

— Modificările genetice primare care au loc în celula progenitor ca urmare a infecției cu virusul oncogen și declanșarea proliferărilor celulare sînt procese diferite ca natură și pot fi separate prin intervale de timp foarte variabile (uneori prin generații de celule).

---

* „Neoplazie'' se consideră orice grad de ieșire de sub controlul creșterii normale (fie că este vorba de mecanisme de control intracelular, sau de control hormonal) și care conferă celulei o capacitate de creștere selectiv avantajată față de celulele normale din care derivă. Rezultatul creșterii necontrolate, permanentă sau temporară, a celulelor este tumora malignă (culminînd cu moartea gazdei ca urmare a generalizării, metastazării) sau benignă (staționară ori regresivă).

— Alterările profunde genetice se exprimă fenotipic în *modificări măsurabile de ordin morfologic, metabolic* și *antigenic*, fenomen denumit *transformare celulară**. Pe măsură ce se malignizează, modificările morfologice și metabolice pierd din caracteristicile de țesut diferențiat (organite și funcții metabolice care conferă celulei activități specifice tind să descrească sau dispar) și populația neoplazică este orientată spre eficiența maximă de proliferare și invazivitate. Avantajul selectiv în dezvoltarea tumorii este facilitat de produse nou sintetizate ca de exemplu factorul de angiogeneză tumorală (vascularizarea tumorii), antigene fetale (imunodepresie), hormoni anormali, scăderea producției de colagen etc. ca urmare a depresiei dereglate a unor gene celulare sau funcționării de gene virale.

— Efectul transformant al virusului tumoral asupra celulelor în cultură poate fi recunoscut prin :

(i) Apariția de mici focare de celule, asemenea unor microtumori, rezultate din creșterea ratei de metabolism și ratei de multiplicare, ceea ce duce la formare de grunji de celule aglomerate dezordonat ca urmare a pierderii inhibiției de contact. Studiul cantitativ arată că un microfocar de celule transformate este generat de o singură particulă de virus.

(ii) Inocularea la animale (de obicei hamster, șoarece sau șobolan sugari) de celule transformate *in vitro* este urmată de producerea de tumori. Este cel mai elocvent test de adevărată transformare celulară însă nu-i totdeauna realizabil.

(iii) Modificări celulare de aspect, constituție și comportare, transmisibile ereditar, ca de exemplu : alterări ale kariotipului, sinteza de noi antigene și noi enzime, intensificarea ratei de creștere etc.

Trebuie reținut însă că asemenea modificări nu exprimă totdeauna un potențial oncogen intrinsec al virusului testat și că, pe de altă parte, pot surveni fără virus, în celule menținute timp îndelungat în cultură.

— Mecanismele transformării sînt probabil diferite în funcție de sistemul genetic replicativ, de strategia genomului RNA — sau DNA-virusului oncogen, însă trebuie să se manifeste în cadrul unei *infecții virale persistente* (vezi cap. XL și XLV), productivă sau neproductivă, cu genom viral integrat în genomul gazdei și exprimat total sau parțial.

Este necesară expresia continuă a informației virale (adică transcripția și translația în proteine virus specifice) pentru a se menține starea de transformare.

Transformarea celulei întrunește deseori criteriile conversiei lisogene. De exemplu, linia de celule L de fibroblaști pulmonari de șoarece care sînt lipsite de activitate timidinkinază (LMTK$^-$), după infecție persistentă cu virus HSV-1 iradiat cu UV sînt convertite în TK+ (cîștigă activitate timidinkinază) prin integrarea și exprimarea genei TK a virusului herpetic integrat.

DNA al HSV persistă în celulele transformate (biochimic și morfologic) în decursul a multor generații fiind transcris și translat în produși genici enzimatic activi, virus specifici.

---

* **Practic, atît în culturi celulare cît mai ales în organism, modificările devin măsurabile cînd un număr important de celule, variabil în raport de sensibilitatea metodei calitative sau cantitative de decelare folosită, a suferit procesul de transformare.**

În procesul transformării celulei gazdă *virusurile oncogene cu DNA* induc formarea de antigen viral specific în nucleul celulei numit *antigen T* şi antigene virale specifice în membrana citoplasmică numite antigene tumorale „de transplant" (*TSTA*) în timp ce *virusurile oncogene cu RNA* induc numai antigene TSTA.

De o importanţă deosebită pentru înţelegerea fenomenului sînt noţiunile de virus defectiv, de interacţiuni virale (sisteme helper, complementare etc.), de transfecţie şi transmisie verticală.

B. VIRUSURI ONCOGENE CU RNA (ONCORNAVIRUSURI)

Oncornavirusurile (leucovirusuri) fac parte, împreună cu grupul virusurilor *maedi/visna* * şi *foamy*- sau *spuma*-virusuri **, din familia RETROVIRIDAE (tabel 106). Sînt alcătuite dintr-un RNA cu greutate moleculară mare încapsidat în asociaţie cu o reverstranscriptază. Constituie un grup relativ omogen în ceea ce priveşte structura, compoziţia şi modul de replicare, sînt ubicvitare (vertebrate inclusiv şerpi) şi cauzează tumori la gazdele naturale, mai curînd prin transmisie verticală decît orizontală.

1. CLASIFICARE

Pot fi împărţite în 6 grupe ţinînd seama de gazde naturale, caracterele antigenice şi tipul de tumoră (vezi tabel 106).

(i) *Virusurile leucozelor aviare* sînt un grup antigenic înrudit şi produc mai ales *leucemii*: virusurile limfomatozei aviare (*ALV*), mieloblastozei *(AMV)*, eritroblastozei *(AEV)* şi *sarcoame*: virusurile sarcomului Rous *(RSV)*.

(ii) *Virusurile leucozelor murine (MLV* sau *MuLV)* asociate cu o varietate de *leucemii* la şoarece şi poartă numele celui care a izolat prima dată tulpina ***, de exemplu: Gross (MLV—G), Friend (MLV—F), Moloney (MLV—M), Rauscher (MLV--R), la care se adaugă virusurile sarcomului murin *(MSV)* care induc rhabdomyosarcoame.

Înrudite antigenic cu *MLV* sînt virusurile sarcomului hamsterului *(HaSV)* şi leucemiei şobolanului *(RaLV)*.

---

* *Visna* este o boală cronică demielinizantă letală (panleucoencefalită) a oilor din Islanda; Virusul bolii visna posedă reverstranscriptază, se maturează prin înmugurire şi în culturi celulare produce sinciţii prin fuziunea celulelor.

Maedi este o pneumonie interstiţială cronică progresivă a oilor cauzată de virusuri serologic înrudite, cu reverstranscriptază în virion.

** Virusuri latente la maimuţe, bovine, feline, hamster, om, aparent nepatogene, posedă reverstranscriptază în virion, produc în culturi celulare sinciţii şi un efect citopatic caracteristic. Atît maedi, visna cît şi foamy-virusuri dau o infecţie productivă, citocidă. Recent, s-a propus includerea în familia Retroviridae şi a virusului anemiei infecţioase a calului care posedă revertază în virion.

*** Practică astăzi părăsită.

Tabelul 106

Familia RETROVIRIDAE (R/1 :7-10/2: Se/* : V/C.I.O.R.) Clasificare şi nomenclatură (I.C.T.V.1976)

Subfamilii	Genuri	Subgenuri	Specii (grupe)	Subspecii (subgrupe)	Tulpini
ONCOVIRINAE (R/$_1$:7/$_2$:Se/* : V/C, O)	**Oncovirus tip C** (R/$_1$: 7/$_2$: Se/* : V/C, O)	. . . a *mamiferelor*	Virusuri a sarcome şi leucemii *murine*	Virusuri murine tip C ecotropice	Virusul sarcomului murin Finkel-Biskis-Jenkin Virusul eritroleucemiei Friend Virusul leucemiei Graffi Virusul leucemiei Gross Virusul sarcomului Harney Pot fi recombinaţi cu oncornavirusurile tip C ale şobolanului Virusul sarcomului Kirsten Virusul leucemiei Moloney Virusul sarcomului Moloney Virusul eritroleucemiei Rauscher
				Virusuri murine tip C xenotropice	
				Virusuri murine tip C amphitropice	
			Virusuri a sarcome şi leucemia *felinelor*	Virusul leucemiei feline subgrup A	tulpina MAH
				Virusul leucemiei feline subgrup B	tulpina F4
				Virusul leucemiei feline subgrup C	tulpina FL 237
			Oncovirus tip C endogen al *baboonului*		
			Oncovirus tip C *bovin*		
			Oncovirus tip C al *cobaiului*		
			Oncovirus tip C *porcin*		
			Oncovirus tip C al *şobolanului*		
			Oncovirus tip C endogen la *feline*		RD 114 şi CCC
			Virusurile sarcomului şi leucemiei izolate de la maimuţa pletoasă şi gibbon		

		... a *păsărilor*	1. Virusurile leucozelor și sarcome *aviare*	subgrup A	Virus Rous-asociat tip 1 (RAV-1) Tulpina Praga de sarcom Rous-A (PR-RSV-A)
				subgrup B	Virus Rous-asociat tip 2 (RAV-2) Tulpina Praga de sarcom Rous-B (PR-RSV-B)
				subgrup C	Virus Rous-asociat tip 49 (RAV-49) Tulpina Praga de sarcom Rous-C (PR-RSV-C)
				subgrup D	Virus Rous-asociat tip 50 (RAV-50) Tulpina Schmidt-Ruppin de virus sarcom Rous-D (SR-RSV-D)
				subgrup E	Virus Rous-asociat tip 0 (RAV-0) Virus Rous-asociat tip 60 (RAV-60) Virusul sarcom Rous Schmidt-Ruppin-E (SR-RSV-E)
				subgrup F	Virusul Rous-asociat tip 61 (RAV-61)
				subgrup G	Virusul fazanului auriu (GPV)
			2. Virusul reticuloendoteliozei aviare		Virusul sincițial al găinii Virusul anemiei infecțioase a raței Virusul necrozei splenice a raței Tulpina T de virus a reticuloendoteliozei curcii
		... a *reptilelor*	Virusul tip C al viperei		

continuare Tabelul 106

Subfamilii	Genuri	Subgenuri	Specii (grupe)	Subspecii (subgrupe)	Tulpini
	Oncovirus tip B (R/$_1$: 10^{-12}/0.8 :Se/* : V/C, 1)		Virusul tumorii mamare a șoarecelui Virusuri similare de la cobai, și posibil, alte animale		
SPUMAVIRINAE (R/$_1$: 7^{-10}/* : Se/* : V/C, R)	(nedefinite)		Virusul sincițial bovin ,, ,, felin ,, ,, al hamsterului ,, spumos al omului Virusurile spumoase simiene (9 serotipuri)		
LENTIVIRINAE (R/$_1$:10/$_2$: Se/* :V/O, R)	(nedefinite)		Grupul Maedi/visna		

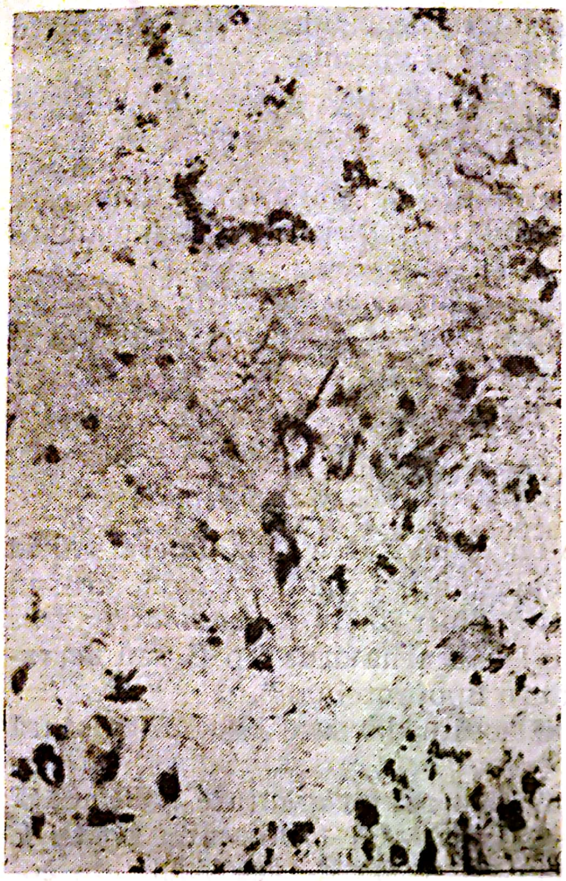


Fig. 226 : Electronomicrografii ale virusului adenocarcinomului mamar a șoarecelui, colorat cu imunoperoxidază în celule acinare. Concentrația în antigen crește la particule mature, tip B. (× 60 000). (*Thomas, J.A.* și colab.)

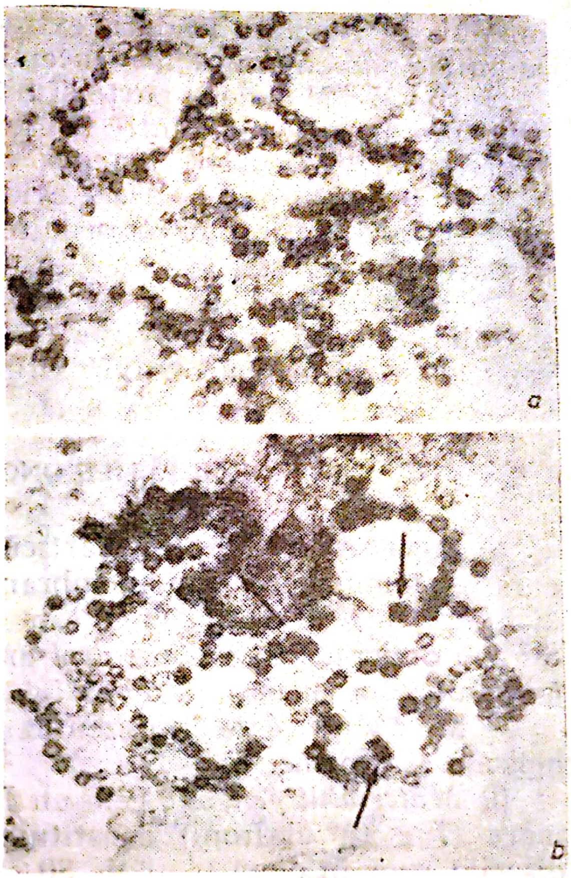


Fig. 227 : Adenocarcinom mamar la șoarece : antigene virale specifice decelate prin imunoperoxidază (ser imun de iepure față de particule tip A și tip B de virus, conjugat cu enzimă) în citoplasma celulelor acinare (× 360). (*Thomas, J.A.* și colab.)

(iii) *Virusul tumorii mamare a șoarecelui (MTV)* (cunoscut și sub denumirea de virus Bittner sau ,,factor lapte'') este un virus *tip B*, diferit antigenic de oncornavirusurile murine *tip C* * menționate mai sus *(MuLV)*, se transmite prin lapte și cauzează adenocarcinom mamar la anumite linii de șoareci.

(iv) *Virusurile leucozelor felinelor (FeLV)* care produc leucemii și virusurile sarcoamelor la pisică *(FeSV)* și la alte specii (cîine, iepure, maimuță).

(v) *Oncornavirusuri ale maimuțelor (simiene)* cuprind trei virusuri izolate din linii celulare derivate din tumori spontane la primate subhumane :

— *virusul tumorii mamare Mason-Pfizer (M-PMV)* din tumoră mamară la o maimuță rhesus ;

— *virusul sarcomului simian (SiSV)* din fibrosarcom la o maimuță pletoasă *(wooly monkey)* americană ;

— *virusul leucemiei maimuței gibbon (GALV)* din limfosarcoame și leucemie mielogenă la un gibbon african, specie filogenetic strîns înrudită omului. În repetate rînduri, extracte acelulare de celule GALV inoculate la pui de gibbon au produs leucemie mielogenă și viremie.

---

* La oncornavirus *tip C*, miezul electronodens al virionului matur este plasat *central* iar la oncornavirus *tip B* este *excentric*. Antigenic sînt complet diferite.

Între M-PMV de o parte și SiSV și GALV de altă parte sînt aceleași diferențe antigenice ca între MTV și MLV.

(vi) *Oncornavirusuri umane*

— *Virusul tumorii mamare* evidențiat în 1975 de McGrath și Rich, este un oncornavirus tip B, cu transmitere verticală ca și virusul tumorii mamare a șoarecelui (MTV) ;

— *Virusul leucemiei acute mielocitare* evidențiat în 1975 de Gallagher și Gallo, este un oncornavirus tip C și care ar fi transmis orizontal și vertical ca oricare oncornavirus tip C.

2. PROPRIETĂȚILE ONCORNAVIRUSURILOR

a) **Structura virionului**. Particula de oncornavirus matur, liberă sau în curs de înmugurire prin membrana citoplasmică a celulei gazdă, are un diametru de 100—120 nm și este alcătuită dintr-un *miez icosahedric dens* (55 nm diametru), plasat *central* în virion la oncornavirus tip C sau *excentric* la oncornavirus tip B, și *un înveliș* extern lipoproteinic *.

— Miezul este reprezentat de nucleocapsidă care are o structură helicală și conține :

(i) *Materialul genomic* este un RNA monospiral cu greutate moleculară mare (7×10^6 daltoni) constituind un agregat 60—70S care poate fi disociat ușor în două piese de 30—35S fiecare, lungi de cca 5000 nucleotide și avînd la capete fire libere de acid poliadenilic lungi de 100—150 nucleotide. Fiecare piesă pare să fie un genom complet și conține aceeași informație genetică.

Genomul virusului sarcomului aviar Rous (RSV) constă din cel puțin 4 „gene" care, în ordinea transcripției și translației, sînt : *gag* care codifică antigenul specific de grup *(gs)* plasat în miezul virionului, *pol* care codifică polimeraza inversă (revertaza), *env* care codifică glicoproteina de înveliș *(gp)* și *src* care induce proteina transformantă, sarcoma (*Varmus* și colab., 1978).

(ii) *Reverstranscriptaza* asociată cu structura în „pînză de păianjen" a genoforului.

(iii) *Proteina structurală virală predominantă* (majoră) numită *P30* (la oncornavirusurile mamiferelor) și *P27* (la oncoaviare) cu greutate moleculară 30.000 și respectiv 27.000.

Dimensiunile și proprietățile antigenice ale componentei P30 sînt diferite la oncornavirusuri tip C față de tip B. Proteina majoră structurală posedă antigenul comun de grup (antigen *gs*) pe baza căruia se alcătuiesc grupele de oncornavirusuri.

— Învelișul viral, derivat în principal din membrana plasmatică gazdă, este compus și conține cel puțin două proteine virus-specifice :

---

* Se descriu și particule de *tip A* cu nucleoid lax și mai puțin dens, adesea plasate în asociație cu aparatul Golgi, și considerate a fi virus imatur din care provin particule tip C sau B.

gp 70 cu gr. mol. 70.000 prezentă și pe suprafața celulelor tumorii indusă de virus la animal și *p12* sau *p15* cu gr. mol de 12.000 sau 15.000 în raport de virus, prezentă în virus și pe suprafața unor tumori virus induse. Sînt proteine glicosilate filamentoase (10 nm) distribuite regulat *(peplomere)* pe suprafața virionului (analog hemaglutininei și neuraminidazei la myxovirus), codificate de „gena" *env*.

Dimensiunea și spațierea peplomerelor diferă la particule tip C față de acelea de tip B. Reprezintă antigenele de suprafață cu specificitate de tip sau de grup *.

b) **Infecție, replicare, transformare.** După atașare și pătrundere în celula gazdă, materialul genomic este dezvelit și RNA viral este transcris în DNA de reverstranscriptază constituindu-se astfel în citoplasmă un *hibrid RNA/DNA* care este apoi convertit în *DNA dublu spiral circular* și *super-helical* printr-un mecanism biochimic particular, însă nelămurit **. (În primele 6 ore de la infecție replicarea oncornavirusului poate fi întreruptă dacă se administrează un inhibitor al sintezei DNA.)

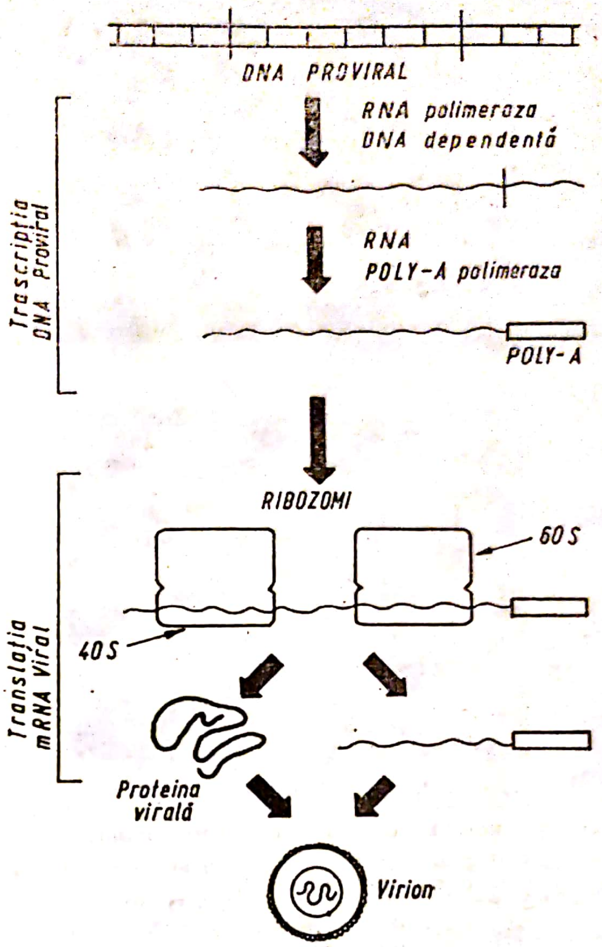


Fig. 228: Reprezentare schematică a proceselor moleculare implicate în expresia DNA proviral al oncornavirusurilor (*Chandra, P.* și colab.)

Se produc astfel 40—50 cópii DNA de fiecare RNA-virus infectant și care par a fi sintetizate tot în citoplasmă, denumite „*provirusuri libere*" ***. Acestea sînt transportate în nucleu unde se pot combina cu cromozomul

---

* *Proteina P30* (sau antigen *gs*) evidențiază reacții antigenice încrucișate interspecii cu oncornavirusurile mamiferelor dar nu și cu ale păsărilor și invers, *proteina p27* (antigenul *gs*) a oncornavirusurilor aviare. Antigenele *gs* pot fi evidențiate prin RFC, reacția de precipitare, imunofluorescență, imunoperoxidază, radioimunoprecipitare etc. iar antigenele „de suprafață", în plus, și prin reacția de neutralizare. Testele COFAL (fixarea complementului în leucoza *aviară*), COMUL (fixarea complementului în leucoza *murină*) și COCAL (fixarea complementului în leucoza *pisicilor = cat*) indică indirect prezența tumorilor cu oncornavirus la vertebratele cercetate.

** În plus față de reverstranscriptaza virală sînt implicate în acest proces și alte enzime: DNA polimeraze, endonuclează, DNA-ligază, proteinkinaze etc.

*** DNA proviral extras din celule infectate cu oncornavirus este infecțios: introdus în celule noi determină transformare și producție de virus RNA tumoral. Tehnici moderne de separare, purificare și concentrare au permis (1976) obținerea în stare pură și fotografierea la microscopul electronic a DNA proviral al virusului Moloney a leucemiei șoarecelui (MuLV—M).

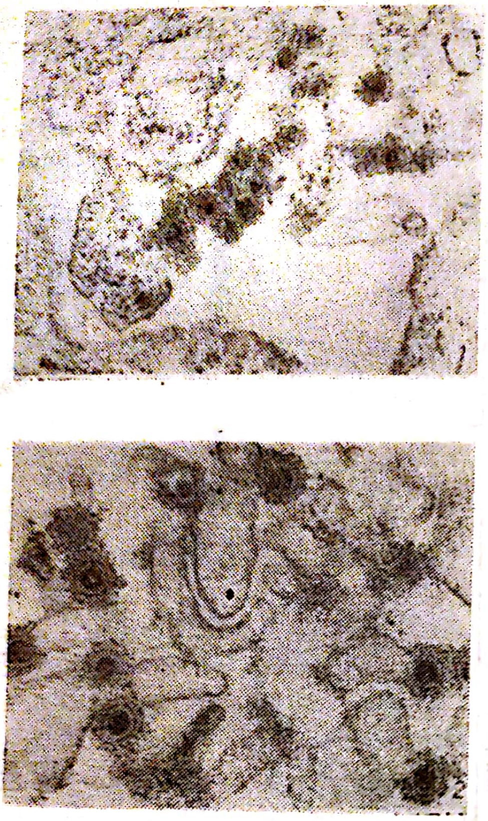


Fig. 229: Oncornavirus (carcinom mamar) colorat cu imunoferitină.

1: Particule tip C (virus matur) în celule din tumoare spontană (X 52 500).
2: Particule tip B în celule de linie D–W infectate cu lapte din glandă cu tumoare (X 70 000). (*Dmochowski, L.* și colab.)

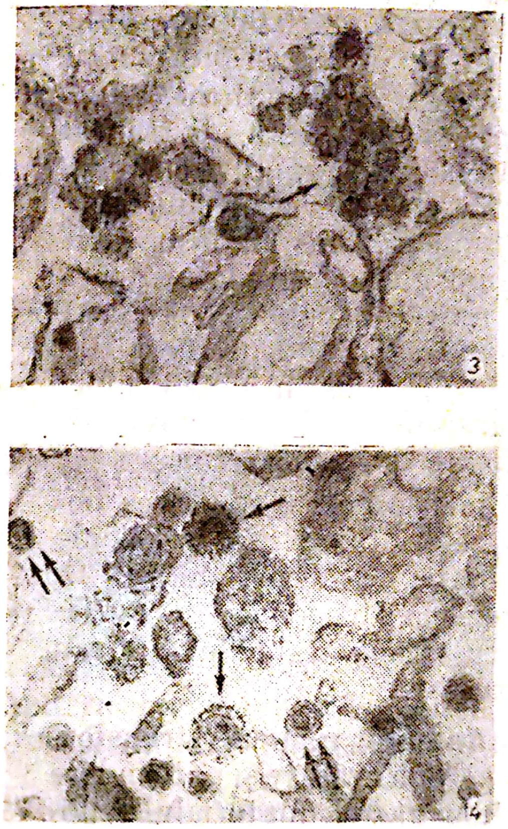


Fig. 230: Oncornavirus (carcinom mamar) colorat cu imunoferitină.

3: Particule tip A (imature) în celule D–W (X 70 000).
4: Particule tip B (o săgeată) și tip C (două săgeți) (X 70 000). (*Dmochowski, L.* și colab.)

gazdă și devin *provirus integrat*. Din acest moment începe *transformarea* celulei gazdă ca urmare a expresiei de gene virale (analog conversiei lisogene) și procesele pot fi inhibate cu actinomycină D. În continuare, gazda celulară transformată poate să producă sau să nu producă virus RNA matur. (fig. 231).

(i) *Infecția productivă* se desfășoară în linii generale prin aceleași mecanisme care permit expresia genelor celulare :

— în nucleul celulei infectate se sintetizează, pe matrița DNA provirus și de către RNA polimeraze celulare, numeroase cópii de RNA viral („transcripte") ;

— transcriptele sînt transportate în citoplasmă unde sînt utilizate pentru sinteza de proteine virale ;

— RNA viral este apoi pachetat cu proteine virale în vecinătatea membranei citoplasmice, structura rezultată fiind liberată apoi la suprafața celulei prin înmugurire, fază cînd este aplicat învelișul extern (fig. 232).

(ii) *Transformarea celulară* se produce atît în infecții productive cît și neproductive, este determinată de expresia continuă a provirusului integrat și constă în starea metabolică prin care o celulă în curs de malignizare dintr-o tumoră se deosebește de corespondentul ei normal (fig. 233).

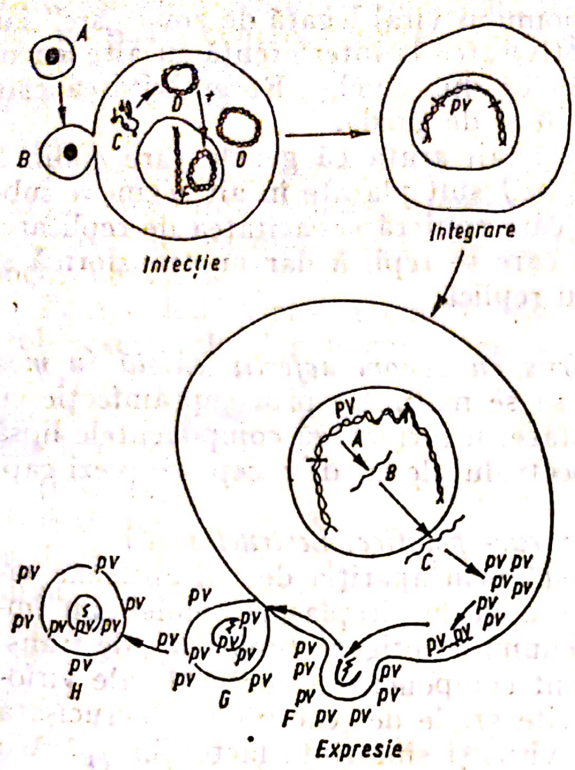

A
B
C
D
D
Infecție
PV
Integrare
PV
A
B
C
pv
H
G
F
Expresie

Fig. 231 : Stadiile replicării oncornavirusului.

A : Virus liber. *B* : Virus adsorbit. *C* : RNA viral și reverstranscriptaza „injectate" în celulă. *D* : Provirus DNA circular (citoplasmatic). *E* : Provirus DNA (nuclear). *F*, *G* : Virus „înmugurind". *H* : Virion liberat, capabil de o nouă infecție orizontală. PV = provirus integrat; *pv* = proteina virale. (*Gillespie, D.* și *Gallo, R.C.*)

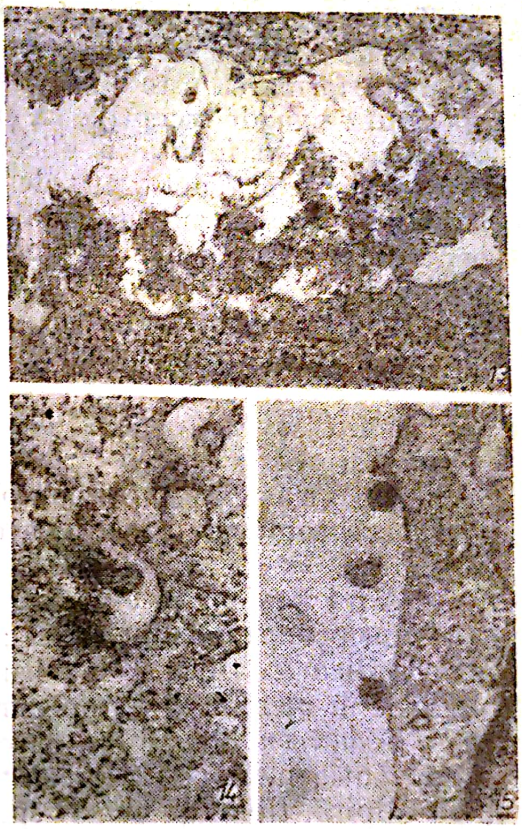


Fig. *232* : Oncornavirus (leucemia felinelor) colorat cu imunoferitină.

13 și *14* : Particule tip C de virus al leucemiei pisicii (X 52 500).

15 : Particule tip C înmugurind la suprafața celulei (X 45 000). (*Dmochowski, L.* și colab.)

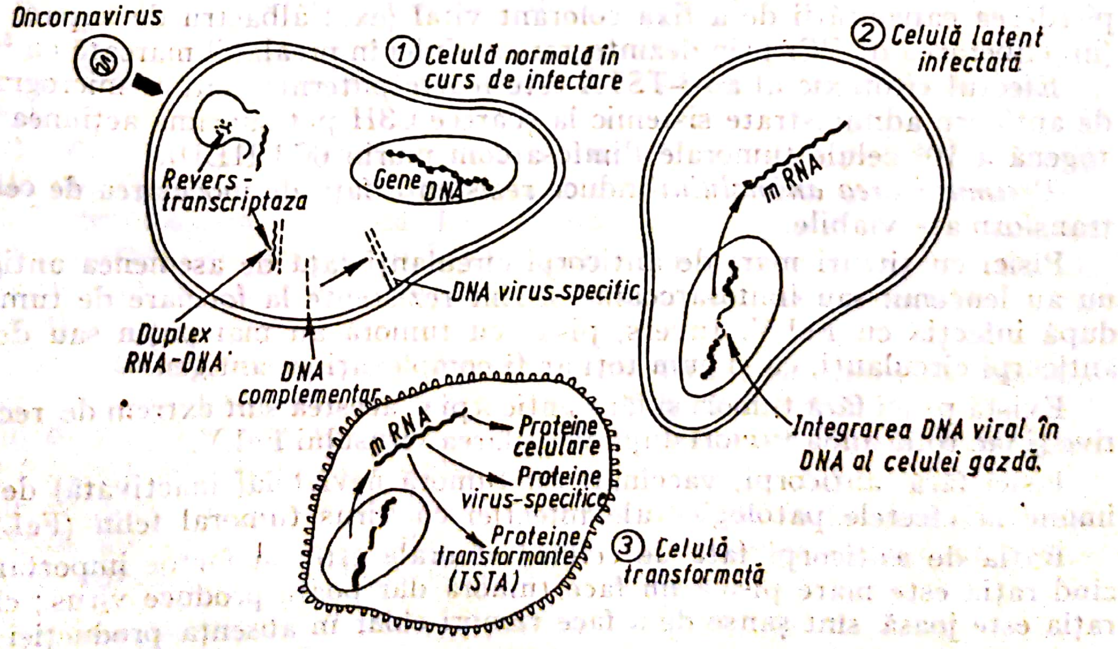

Oncornavirus
① Celulă normală în curs de infectare
② Celulă latent infectată
Revers-transcriptaza
Gene DNA
mRNA
DNA virus-specific
Duplex RNA-DNA
DNA complementar
mRNA
Proteine celulare
Proteine virus-specifice
Proteine transformante (TSTA)
③ Celulă transformată
Integrarea DNA viral în DNA al celulei gazdă

Fig. 233 : Reprezentare schematică a oncogenezei prin virus RNA tumoral (*Chandra, P.*)

Trăsătura principală a fenotipului transformat este modificarea caracterelor de creștere și diferențiere a celulei (vezi mai sus).

Transformarea este o funcție a genomului viral legată de zona „*src*" iar spectrul de gazde receptive ca și receptivitatea la interferență cu alte leucovirusuri este o funcție a glicoproteinelor din înveliș. Receptivitatea este deci controlată genetic atît de virus cît și de gazdă.

Studii cu mutanți *ts* condiționali letali arată că genele care codifică pentru capacitatea de transformare (*src*) sînt plasate în alt segment subgenomic (plasat terminal) decît acele care conferă capacitatea de replicare. Se pot obține deci mutanți defectivi care se replică dar nu transformă și invers, mutanți transformanți care nu replică.

— Virus defectiv.

Tulpini și particule de oncornavirus cu genom defectiv există în mod obișnuit și pot fi ajutate („salvate") să se matureze prin suprainfecție cu un helper virus care, prin complementare, îi furnizează componentele lipsă și, uneori, totodată o modificare a spectrului de gazde receptive (vezi cap. XL).

— Antigene tumorale *(virus-specifice, nestructurale)*.

Transformarea celulelor se manifestă prin apariția de noi antigene virus-specifice (codificate de virus) care apar în citoplasma celulei sau implantate în membrana citoplasmică denumite antigene tumorale „de transplant" *(antigen TSTA)* și care nu sînt componente structurale ale virionului. Antigenele TSTA prezintă diferite grade de reactivitate încrucișată între tulpini, tipuri și uneori specii de virus și sînt ținta factorilor apărării imune a gazdei.

(iii) *Răspunsul imun*. Față de antigenele tumorale gazda elaborează starea de imunitate: anticorpi și limfocite specific sensibilizate.

Fixarea anticorpilor pe celula transformată este citotoxică, are ca rezultat moartea celulei, ceea ce se măsoară prin (i) pierderea capacității de a induce tumori după inocularea amestecului la animal singeneic, (ii) pierderea capacității de a fixa colorant vital (ex.: albastru de tripan) sau (iii) eliberarea de ^{51}Cr prin dezintegrarea celulei în prealabil marcată cu ^{51}Cr.

Efectul citotoxic al anti-TSTA este foarte puternic: cîteva micrograme de anticorp administrate sistemic la șoarece C3H pot suprima acțiunea patogenă a 10^5 celule tumorale (limfosarcom murin 6C3 HED).

Preimunizarea animalului induce rezistență față de inocularea de celule transformate viabile.

Pisici cu titruri mari de anticorpi circulanți față de asemenea antigen nu au leucemii sau limfosarcoame și sînt rezistente la formare de tumoră după infecția cu FeLV. Invers, pisici cu tumoră au mai puțin sau deloc anticorpi circulanți, ca și cum toți ar fi complexați cu antigen.

Există pisici fără tumori și fără anticorpi și acestea sînt extrem de receptive și fac totdeauna tumori după inocularea virusului FeLV.

Pisici fără anticorpi, vaccinate cu tumoră neviabilă(inactivată) devin imune la efectele patologice ale infecției cu virus tumoral felin (FeLV).

Rația de anticorpi față de celule tumorale este un factor important: cînd rația este mare pisica nu face tumoră dar poate produce virus; cînd rația este joasă sînt șanse de a face tumori chiar în absența producției de virus.

Deci anticorpul față de *TSTA* controlează direct *creșterea* tumorii. Alt anticorp, anticorpul față de *virion*, poate controla *producția* de virus FeLV, dar nu poate controla creșterea tumorii.

Reacția imunitară și în special aceea mediată celular este de o importanță deosebită în dezvoltarea tumorii sau a rezistenței față de tumora virus-indusă.

Experimental, intervențiile imunosupresive inclusiv timectomia neonatală, substanțe chimice, radiații Roentgen și ser antilimfocitar, alterează susceptibilitatea unor tulpini de șoareci normal genetic rezistenți la efecte oncogene virale.

Pentru leucovirusuri există dovezi că reacții imunitare, care implică proliferarea celulelor precursor sau transformare blastică a limfocitelor (ca de exemplu în reacții de tip grefă *versus* gazdă), pot induce ,,virogene'' latente *, să producă virioni sau componente virale și prin aceasta să declanșeze leucemie sau limfosarcom.

(iv) *Constituirea și evoluția tumorii.* Celula transformată de virus începe să se dividă la o rată crescută, celulele tumorale se înmulțesc și astfel se produce o tumoră vizibilă care poate fi: (i) *clonală* adică derivată dintr-o singură celulă, descendenții fiind infectați *vertical* cu provirusul integrat în genom, unde se comportă ca genele gazdă și este replicat sincron cu genomul gazdă. În asemenea situație transformarea malignă este rezultatul expresiei provirusului la descendenții infectați vertical. (ii) Celula inițial infectată productiv cu virus, transformată sau nu, servește ca sursă de virus în interiorul organismului și mereu alte celule sînt infectate *orizontal*, sînt transformate și proliferează construind tumora. În această situație, există continuu atît activitate reverstranscriptază (pentru construire și integrare de provirus) cît și activitate transformantă (expresia provirusului). Acest tip de tumoră ar consta din celule recrutate prin infecție *orizontală* (ceea ce presupune producție și extruzie de virus matur) sau/și *transfecție* (trecerea de intermediari replicativi acid nucleinici fabricați de celula infectată la alte celule).

Chimioterapia trebuie să țină seama de tipul de tumoră și de stadiul evolutiv.

(v) ,,*Provirus*'' *și* ,,*Virogenă*''. ,,Provirusul'' este structura DNA dublu spirală construită de reverstranscriptaza unui oncornavirus tip C și integrată în genomul celulei gazdă. Este deci *un grup ligatural de gene străine, exogene, introdus recent prin infecție orizontală* în genomul unui vertebrat. În continuare, se transmite vertical (la descendenți) sau orizontal (la celule noi).

,,*Virogena*'' este conceptual diferită de provirus prin aceea că sînt elemente care fac parte din genotipul unui grup de animale (ex.: al unei specii) de multă vreme (de ex.: mai mult de 10^6 ani). Sînt deci *endogene și se transmit numai vertical* (tabel 107).

Un provirus ar putea deveni o virogenă dacă intră în linia de celule germinale ale animalului infectat și, probabil, asemenea eveniment a survenit de cîteva ori în evoluția istorică a speciei.

---

* Printr-un proces similar inducției profagului.

Tabelul 107

Caracteristicile ipotezelor privind oncogeneza prin oncornavirusuri

PROVIRUS (Temin, 1962)	ONCOGENA (Huebner și Todaro, 1969)	PROTOVIRUS (Temin, 1970)
1) Informația genetică pentru cancer este introdusă în celulă din afară prin infecție orizontală virală.	1) Informația genetică pentru cancer există în fiecare celulă.	1) Informația genetică pentru cancer este sintetizată *de novo*.
2) Reverstranscriptaza intervine integrînd informația virală în genomul gazdă.	2) Nu este necesară intervenția reverstranscriptazei pentru inducerea cancerului	2) Este necesară intervenția reverstranscriptazei pentru integrare în genomul gazdă.
3) Provirusurile sînt piese de informație genetică ce pot fi asamblate într-un întreg (virion).	3) Neoplazia, și uneori virus complet, apar atunci cînd informația genetică preexistentă este dereprimată.	3) Malignizarea și virusuri tumorale survin printr-un proces de modificare genetică în care piese de informație genetică se asamblează întîmplător în așa fel încît transformarea celulei rezultă prin ,,evoluție alterată'' (,,misevolution'').
	4) Oncogena nu funcționează continuu în celule normale.	
	5) Oncogena este transmisă vertical prin celula germinală.	4) Reverstranscriptaza este prezentă în celule normale avînd rol în procese de diferențiere.
		5) Numai ,,potențialul'' de transformare malignă este transmis vertical.

(după *B. J. Culliton*, 1972)

Virusurile RNA tumorale al căror RNA este nemodificat sau minimal modificat în raport cu acela al gazdei (ARN viral prezintă un grad înalt de omologie cu acela al gazdei) se comportă ca ,,virogene'' (sînt ,,endogene'') și sînt slab sau deloc tumorigene datorită represiei prin mecanisme celulare de control. Virusul se activează numai prin inducție cu stimuli carcinogeni (radiații, substanțe chimice, hormoni etc.).

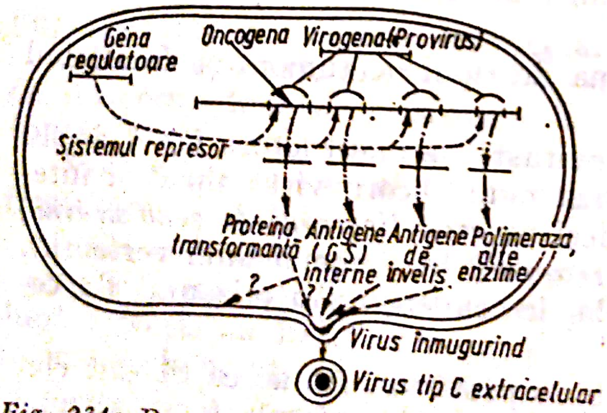


Fig. 234: Reprezentare schematică a ipotezei oncogene a lui Huebner R. și Todaro, G. (1969).

Ipoteza oncogenei presupune că tumorile sînt induse de proteine transformante care sînt codificate de o oncogenă, parte componentă a unei structuri mai mari, o virogenă, care are capacitatea de a produce un virus complet oncogen. Teoretic, în celule normale oncogenele sînt controlate de gene regulatoare care codifică un sistem represor.

Oncornavirusurile tip B și anume virusul Bittner al tumorii mamare a șoarecelui *(MTV)*, virusul tumorii mamare umane (1975) și, probabil, virusul Mason-Pfizer al tumorii mamare a maimuței rhesus (M-PMV) *, fac parte din categoria virogene.

Virusurile tumorale care au RNA modificat în mare măsură, se comportă ca străine, exogene, se transmit orizontal şi sînt tumorigene. În această categorie intră numeroase oncornavirusuri tip C care cauzează la vertebrate inclusiv om, leucemii, limfoame şi sarcoame — tumori derivate dintr-o clasă de ţesuturi care include ţesutul conjunctiv, cartilaj, os, muşchi şi celule albe sanguine.

---

* Virusul M–PMV are caractere morfologice atît de oncorna tip B cît și C; este antigenic net diferit față de alte virusuri simiene așa după cum și virusul MTV este diferit morfologic și antigenic de alte virusuri murine.

În afară de poziţia diferită a nucleoidului în virion, oncorna tip B şi tip C se deosebesc şi prin dimensiunile proteinei majore interne *(gs)* şi dimensiunile şi spaţierea peplomerelor, *gp* (glicoproteinelor tubulare înfipte în învelişul extern).

Deşi studii epidemiologice ale leucemiilor şi limfoamelor la om * relevă uneori o agregare a cazurilor, nu este probabil că aceste boli sînt contagioase în sensul uzual al cuvîntului.

Iniţierea tumorii rezultă din interacţiuni complexe în care intervin (i) infecţia cu un virus tumorigen, (ii) intervenţia unui factor de mediu iritativ (ex. : expunere la radiaţii) şi (iii) predispoziţie genetică (în sensul configuraţiei receptorilor de membrană, structură genetică, mecanisme celulare de control, reactivitate şi experienţa imunitară a gazdei etc.).

3. CHIMIOTERAPIE ANTIVIRALĂ EXPERIMENTALĂ

Momentele cele mai vulnerabile din procesul infecţiei celulei cu oncornavirus şi care pot constitui „ţinte" pentru chimioterapia specifică ar putea fi (vezi şi cap. XLIII) :

(i) *Prevenirea infecţiei cu virusul exogen* adică a construirii cópiilor DNA de către reverstranscriptază şi inserţiei (integrării) în genomul gazdă.

Procesul poate fi interceptat, numai în primele 6 ore de la infecţie, cu antivirale care inhibă sinteza DNA. Asemenea substanţe însă nu diferenţiază sinteza virală de sinteza gazdă.

Unii derivaţi de rifampicină inhibă în culturi celulare acţiunea reverstranscriptazei virale şi astfel determină oprirea infecţiei dar nu sînt activi la animal.

Un agent antiviral cu acţiune asupra reverstranscriptazei ar putea fi util pentru *menţinerea remisiunii* tumorii cu oncornavirus (obţinută de ex. prin iradiere), terapia continuă cu agentul activ blocînd infecţia a noi celule cu virus eliberat din focarele celulare rămase după iradiere dacă tipul de tumoră este realizat prin infecţie virală productivă şi recrutare de celule prin infecţie orizontală.

(ii) *Inhibarea expresiei genelor virale,* endogene (virogene) sau străine integrate (provirus), presupune inhibarea diferenţiată a transcripţiei şi translaţiei, problemă care încă nu a găsit o rezolvare practică satisfăcătoare.

Substanţe cu acţiune experimentală de inhibare a transformării cu diferite oncornavirusuri sînt *Cordycepina* (3'-deoxyadenosina), derivaţi de rifamicină, ribavirina, ara-A.

(iii) *Controlul consecinţelor expresiei genelor virale.* Consecinţele expresiei constau în constituirea şi creşterea tumorii celulare faţă de care cele mai eficace şi ţintite posibilităţi de frînare sînt reprezentate de mecanismele imunitare: anticorpi şi celule cu funcţie anticorp faţă de antigenele tumorale de transplant (TSTA), în variantele activă (cu sau fără imunostimulare) şi pasivă.

---

* Leucemia acută mielocitară reprezintă mai puţin de 1% din neoplaziile umane. Dacă s-ar găsi la om corespondenţi pentru toate oncornavirusurile tip C cunoscute la vertebrate procentul ar ajunge la 15%.

4. STUDII PRIVIND NEOPLAZII UMANE ASOCIATE CU ONCORNAVIRUSURI

Începînd din 1970, cînd a fost pusă în evidenţă reverstranscriptaza, cercetările privind etiologia virală a tumorilor umane au căpătat o amploare deosebită.

a). **Argumente privind rolul etiologic posibil al oncornavirusurilor în leucemii la om** au fost acumulate treptat în ultimii ani.

(i) Chiar de la început (1970), în fracţiunea citoplasmică particulată obţinută din leucocite de sînge periferic de la bolnavi cu *leucemie acută mielocitară* (LAM) a fost pusă în evidenţă *activitate reverstranscriptază* (RT) a cărei proprietăţi biologice nu erau diferenţiate de RT prezentă în cele două oncornavirusuri simiene cunoscute că determină leucemie, SiSV şi GALV: serul imun anti-RT grup simian inhibă RT din LAM spre deosebire de serul anti-RT grup aviar.

Activitate RT a fost găsită de asemenea în peste 50% din ţesuturile recoltate din carcinoame mamare, carcinom ovarian şi în ţesuturi din boala Hodgkin.

Faptul nu este surprinzător deoarece atît oncornavirusurile tip C (asociate etiologic cu leucemii, limfoame şi sarcoame) cît şi oncorna tip B (asociat cu adenocarcinom mamar) posedă activitate RT.

Recent (1975), din splina unui copil cu sindrom mielofibrotic a fost izolată o RT care este inhibată de serul anti-RT din virusul leucemiei acute a gibbonului (GALV).

(ii) *Secvenţa nucleotidică a RNA* asociată cu RT izolată de la bolnavi cu LAM, testată prin hibridizarea moleculară (1972—74) este similară cu aceea a acizilor nucleici de oncornavirus tip C *.

(iii) *Prin teste imunologice* (1975), în leucocite periferice proaspete de la bolnavi de LAM, a fost pusă în evidenţă *proteină P30* (antigenul *gs*, specific de grup primate) cu ajutorul unui ser anti—P30 de SiSV. Întrucît între P30 din oncorna tip C şi P30 din oncorna tip B există diferenţe antigenice, serul anti-P30 din virus Mason-Pfizer (probabil virus de tip B asociat cu adenocarcinom mamar la maimuţă rhesus) nu reacţionează cu P30 din LAM care este asociată cu oncorna tip C.

(iv) *P30 a fost văzută la microscopul electronic* în asociere cu particule morfologic caracteristice pentru oncornavirus (1972—1975). De asemenea, particule asemănătoare virusurilor, asociate cu activitate RT, au fost văzute înmugurind la membrana celulei.

---

* Hibridizarea ADN : ARN (după Jankofsky şi Spiegelman, 1962) este un test foarte specific de măsurare a secvenţei nucleotidice, de evaluare a omologiei structurale a acizilor nucleici. Metoda presupune trei timpi : a) izolarea şi purificarea matriţei RNA viral ; b) sinteza de DNA complementar pe matriţa RNA în prezenţa reverstranscriptazei ; c) hibridizarea între cDNA nou format (purificat şi marcat cu radionuclid) şi RNA omolog extras din ţesut sau material de testat (ex. : mielocite în LAM, ţesut mamar adenocarcinomatos etc.).

b) **Probe despre rolul etiologic al oncornavirusurilor** în neoplazii umane presupun izolarea virusului și caracterizarea componentelor virale. Virusul fiind probabil defectiv, se impune inducerea maturării sale printr-un artificiu tehnic.

(i) *Leucemia acută mielogenă.* Eliberare provocată continuă de virus tip C caracteristic, prin înmugurire din membrana leucocitelor din sînge periferic* de la bolnav de leucemie acută mielocitică *(LAM)*, a fost obținută de Gallagher și Gallo în 1975. Virusul posedă RT și antigenul specific de grup P 30 înrudite strîns cu acele ale celor două virusuri simiene SiSV și GALV și cu acele de la alți bolnavi LAM.

Maturarea virusului a fost realizată prin *cocultivarea* mielocitelor de la bolnav cu fibroblaști embrionari umani linia WHE—1 și a fost posibilă datorită folosirii unui sistem de cultivare adecvat virusurilor defective și integrate, implicate în infecții persistente, latente transformante, caracterizat de:

1) folosirea unui *factor de creștere* produs de o tulpină particulară de celule de embrion total uman;

2) cultivarea de *celule mieloide* din sînge periferic sau măduvă osoasă de la bolnavi cu *LAM* și nu alte celule (ex.: limfocite) sau alte boli (ex.: leucemie limfatică);

3) condițiile de cultivare trebuie să permită ca numărul de celule să crească de 10—100x în decurs de 8—10 zile, după o perioadă de lag inițială de 3—4 zile;

4) menținerea aceleiași cinetici a creșterii în următoarele 4 luni ceea ce permite acumularea de leucocite în cantități de grame pornind de la un inocul inițial de 2×10^6 celule;

5) formula leucocitară a culturii în tot timpul cultivării trebuie să rămînă nemodificată, cu excepția scăderii proporției de limfocite;

6) identificarea unui marker-cromozom în toate metafazele de leucocite cultivate, ca probă că se cultivă aceeași clonă de celule leucemice (kariotip constant pe tot timpul cultivării).

Virusul izolat din LAM (toate cele 3 tulpini), (i) posedă RT de tip C grup simian, (ii) secvența nucleotidică a RNA și proteinele virale P 30 și P 12 sînt de asemenea strîns înrudite cu acele ale virusului sarcomului simian (SiSV), (iii) bandează isopicnic în gradient de sucroză la densitatea 1.16 g/ml caracteristică oncornavirusurilor tip C, (iv) în fracțiunile obținute la această valoare (după centrifugare la 98.000 g și preparare de secțiuni) se evidențiază la microscopul electronic numeroase particule virale caracteristice și (v) particule tipice de tip C sînt văzute înmugurind din membrana celulelor cultivate.

Cu aceste tulpini de oncornavirus au fost infectate multiple tulpini și linii celulare umane și animale (transmisie orizontală), unde multiplică în titruri mari (titrare prin metoda plajelor) și induc formare de sinciții. (Probabil virusul are acțiune transformantă numai pentru celule hematopoietice).

---

* Sînge recoltat proaspăt de la bolnav, la cca 2 luni de la debutul bolii, înainte de orice tratament, conținînd 95% celule viabile (verificat prin excluzie cu albastru de tripan) și prelucrat în aceeași zi în boxă sterilizată. Materialul biologic folosit este exclusiv uman pentru a se exclude contaminarea cu oncornavirusuri animale. Din sîngele aceluiași bolnav au fost izolate 3 tulpini de oncornavirus tip C. Una dintre tulpini a fost reizolată din produsul inițial menținut congelat.

Folosindu-se virusul uman drept antigen a fost cercetată, prin imunoelectroforeză și radioimunoprecipitare, prezența de anticorpi la populație umană: datele arată că anticorpi reacționînd cu proteine virale sînt larg răspîndiți în populație începînd de la vîrstă mică.

În concluzie, s-a reușit expresia și asamblarea de virioni oncornavirus tip C (inducerea unui ciclu productiv) din LAM umană, probabil ca rezultat al activării sintezei DNA sau/și stimulării, cu factorul de creștere, a diferențierii celulelor leucemice umane.

Expresia completă a genomului viral, soldată cu virioni maturi, face posibilă transmiterea orizontală a virusului. Acei bolnavi cu leucemie la care virusul se maturează (eliberează) pot fi infectanți pentru persoane receptive din anturaj deoarece numai în acest caz devine posibilă transmiterea orizontală.

(ii) *Adenocarcinomul mamar.* Argumentele în sprijinul etiologiei oncornavirus tip B în adenocarcinom mamar uman (similar cu probele găsite în adenocarcinom mamar la șoarece — agentul Bittner) constau în:

1) În lapte uman, de la femei în familii cu multiple cazuri de cancer de sîn și la femei din secta Parsee în India (un grup de populație consanguină cu mare incidență de cancer de sîn), s-au găsit particule cu aceeași morfologie ca și agentul Bittner: prezente în 66% la membrii familiilor cu istoric de cancer de sîn față de 5% la martor.

2) Particulele din lapte uman sînt asociate cu activitate reverstranscriptază.

3) Testul de hibridare moleculară DNA : RNA cu RNA din virus mamar de șoarece cu tumoră Bittner și RNA omolog extras din țesut adenocarcinomatos mamar uman a dat 67% rezultate pozitive (omologie structurală) față de 0% în alte afecțiuni mamare (fibrocist, fibroadenom), țesut normal, leucemii, sarcom sau folosind alt RNA de plecare.

4) În 1975, Mc Grath și Rich comunică evidențierea unui virus care întrunește criteriile unui oncornavirus tip B. Fiind un virus endogen cu transmisie verticală, realizarea condițiilor de exprimare completă a genomului sînt considerabil mai dificile necesitînd foarte probabil, în plus, complementarea (salvarea) genomului viral cu un sistem helper.

C. VIRUSURI ONCOGENE CU DNA
(oncodnavirusuri)

1. FAMILIA PAPOVAVIRUS (PAPOVAVIRIDAE)

Caracteristici principale: virionul este o particulă isometrică neînvelită cu diametrul de 45—55 nm, compusă din 72 capsomere (60 hexamere + 12 pentamere) grupate în icosahedru. Pot apărea și forme filamentoase. Genomul este o singură moleculă circulară DNA dubluspiral cu gr. mol. 3—5 × $\times 10^6$ conținînd 41—49% Guanină + Citosină. Multiplicarea are loc în nucleu.

Multe specii sînt obișnuit sau potențial oncogene (tab. 108).

Unele specii sînt hemaglutinante prin reacție cu receptori sensibili la neuraminidază.

Infectivitatea este rezistentă la eter, stabilă la acid și căldură.

a) **Virusurile papiloma** sînt singurele cunoscute a produce tumori naturale la gazdele de origină : negi sau papiloame la om, iepure, vacă și cîine.

Nu au putut fi adaptate la culturi celulare.

Tumorile conțin mult virus și se transmit orizontal prin infecție de vecinătate sau la alte gazde. Ecologia acestor virusuri nu este bine cunoscută. Pot fi transmise mecanic de artropode.

Numai papilomul iepurelui, rareori, poate evolua în carcinom malign.

Din tumora malignă nu se poate izola virus matur, infecțios, capabil de infecție orizontală, în schimb se poate extrage DNA infectant. Din virion se poate extrage DNA transformant.

b) **Virusurile polyoma** cauzează frecvent infecții latente persistente la șoareci de laborator sau sălbateci. Șoarecii sînt infectați în primele săptămîni de viață prin contaminare cu urină și salivă de la animale adulte.

Nu au fost găsite tumori naturale în schimb inocularea *experimentală* la șoareci de altă specie sau hamster nou-născuți și imunodeficienți este urmată, după cîteva săptămîni, de apariția de tumori. Șobolani, iepuri, cobai și dihori nou-născuți sînt de asemenea receptivi la doze mari.

DNA izolat din virus este infecțios și tumorigen. Tumorile (sarcoame și epitelioame multiple și cu localizare variabilă) sînt de regulă lipsite de virus matur infecțios. Sînt suficiente 10 celule tumorale transplantate la animal adult pentru a genera noi tumori care pot fi apoi întreținute prin treceri succesive de la animal la animal.

c) **Virusul SV40.** Virusul simian vacuolizant 40 infectează latent și productiv celule de maimuță rhesus sau cynomolgus, fără însă a determina efect citopatic.

Trecerea virusului pe celule de altă specie (ex. maimuță verde africană, *Cercopithecus aethiops)*, este urmată de multiplicare și efect citopatic caracterizat de vacuolizarea citoplasmei.

Virusul SV4O, sau DNA viral, inoculat la hamster nou-născut determină tumori la locul inoculării : sarcoame, ependimoame. Tumorile nu conțin virus și pot fi trecute în serie păstrîndu-și malignitatea. Celulele transformate conțin DNA viral integrat în cromozom.

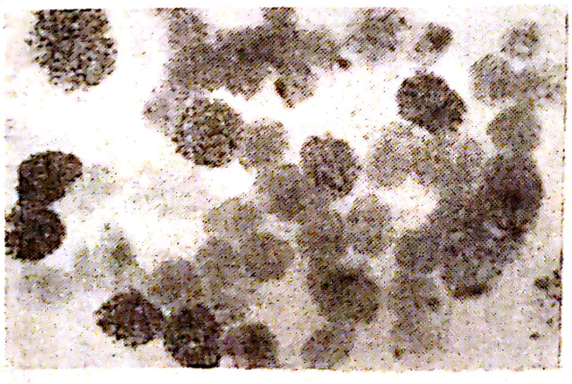


Fig. 235 : Celule WI—38 transformate de infecția persistentă cu virus SV40 : genome DNA—SV40 in celule evidențiate prin citohibridizare cRNA/DNA (× 1 000). (*Pagano, J.S.* și *Huang, E.S*

Milioane de copii în lume au fost expuși la virusul SV4O care contamina vaccinuri virale (ex. : vaccinul poliomielitic), vii sau inactivate și, după ingestie, copiii continuă să excrete SV4O pînă la cinci săptămîni.

d) **Papovavirusurile umane JC și BK.** *Virusul JC*, agentul etiologic al leucoencefalopatiei multifocală progresivă, are potențial oncogen : (i) 83% din hamsteri sugari inoculați intracerebral fac glioame maligne în interval

Tabelul 108

Virusuri oncogene cu DNA (Oncodnavirusuri)

Virus	Gazda de origine	Tumori la gazda de origine	Gazde receptive experimental	
			in vivo (tumori)	in vitro (transformare celulară)
Papovavirusuri :				
— Papilom :				
UMAN	om [1]	da	om	—
iepure	iepure [2]	da	iepure	—
bovine	vacă	da	vacă	bovine
canine	cîine	da	cîine	—
— Polyoma	șoarece	nu	șoarece, hamster, alte rozătoare	șoarece, hamster, șobolan
— SV40	maimuță	nu	hamster	hamster, șoarece, maimuță, om
— JC și BK	om [3]		hamster	hamster, șoarece, șobolan
Adenovirusuri :				
— UMANE tipurile 3, 7, 11, 12, 14, 16, 18, 21, 31	om	nu	hamster, șobolan, șoarece	hamster, șobolan, om
— simiene (unele)	maimuță	nu		
— bovine (tip 3)	vacă	nu		
— aviare (CELO)	găină	nu		
Herpesvirusuri :				
— broască (Lucké, carcinom)	broască [4]	da	broască	—
— iepure (Hinze, limfom)	iepure [5]	nu	iepure	—
— pasăre (Marek, neurolimfom)	găină [6]	da	găină	—
— maimuță (Melendez, limfom)	maimuță [7]	nu	maimuță	—
— UMAN :				
. tip 2	om [8]		hamster	hamster
. virus Epstein-Barr	om [9]			om
Poxvirusuri :				
— Fibroma-Myxoma	iepure [10] veveriță cerb	da	iepure, veveriță, cerb	
— Yaba	maimuță [11]	da	maimuță	
— Molluscum Contagiosum	om [12]	da	om	

1 „Negii" sînt tumori benigne cu morfologie variabilă și survin pe mîini, picioare, laringe sau organe genitale. La posesori apar anticorpi specifici antivirali. Leziunile persistă un timp apoi regresează spontan. Incubația în infecția experimentală la voluntari este de 2–8 luni. Se transmit prin contact direct, inclusiv sexual. Virusul nu a fost cultivat pe culturi celulare sau animale de laborator.

2 Papilomul lui Shope descris la iepurele „coadă de bumbac" este benign. Adaptat la iepure de casă poate deveni malign și metastazant.

3 Alte Papovavirusuri umane, *virusurile BK și JC*, similar virusului SV40 pot fi integrate în genom gazdă, asociat uneori cu boli cronice (vezi cap. V). Virusul JC determină glioame (sarcoame) maligne la 83% din hamsteri sugari inoculați intracerebral și transformă 100% din culturi celulare in vitro.

4 Carcinomul broaștei Lucké: adenocarcinom renal cu incluzii intranucleare conținînd virioni herpetici caracteristici.

5 Virusul (*Herpesvirus Sylvilagus*) a fost inițial izolat dintr-o cultură în degenerare spontană de celule renale de iepure „coadă de bumbac". Induce tumori (limfom) cînd este inoculat la aceeași specie.

6 Neurolimfomatoza găinilor (boala lui Marek): leziunile interesează nervii care devin intens infiltrați cu celule mononucleate și rezultă paralizia aripilor și picioarelor. Se produc și tumori limfoide. Herpesvirusul cauzal este prezent în secreții orale și foliculii penelor. Transmitere prin contact direct și pulberi care rămîn contaminante timp de cîteva săptămîni. Vaccinarea este eficace în prevenirea bolii în crescătorii de păsări.

7 *Herpesvirus Saimiri* și *herpesvirus ateles* sînt izolate din culturi în degenerare spontană de celule renale de maimuță. Ambele, inoculate la primate de altă specie determină limfoame.

8 Virusul herpes simplex tip 2 (HSV-2) și tip 1 (HSV-1) iradiat cu UV sau fotoinactivat induc, în culturi celulare de embrion de hamster, o infecție persistentă transformantă; celulele transformate inoculate la hamster sugar produc tumori la cca 50% din animale (vezi pag. 740). Virusul HSV-2 este asociat la om cu cancer genital (carcinom cervical). Posibil, infecția herpetică cervicală la o vîrstă precoce critică (ex.: la prima sarcină) ar determina întîi displazie cervicală și carcinom după cîțiva ani.

9 Virusul Epstein-Barr (EBV) este asociat cu mononucleoza infecțioasă, limfosarcomul lui Burkitt și carcinomul nazofaringean.

10 Poxvirusuri animale genetic diferite între care se stabilesc relații de complementare: poxvirusul activ (fibroma) stimulează decapsidaza celulară care eliberează virusul inactiv (myxoma) și care astfel declanșează infecția productivă.

11 Virusul Yaba, foarte asemănător vacciniei, produce un histiocitom subcutanat la maimuța rhesus, o boală spontană ușor transmisibilă. Tumorile apar pe cap și pe membre, după un timp ulcerează și după 1–2 luni se vindecă. Accidental poate infecta omul.

12 Molluscum contagiosum, asemănător negilor, constă din mici papule arămii pe trunchi, fese, brațe, față. Celulele epiteliale afectate prezintă incluzii eosinofile nucleare și ocazional citoplasmice cu diametrul 20–30 μm constituite din virioni cu morfologie caracteristică poxvirusului. Se transmit prin contact direct și insecte.

de 6 luni şi 56% fac tumori în interval de 14 luni de la inocularea subcutană sau intraperitoneală; toate tumorile sînt sarcoame (tumori vasculare, leiomyosarcom, gliom); (ii) culturi primare de celule gliale fetale umane, după 3 luni de la inoculare cu virus JC, prezintă activitate mitotică crescută şi morfologie alterată iar 60—90% din probele testate conţin antigen T şi una antigen TSTA.

Virusul BK este larg răspîndit la om, asociat cu stări de imunodeficienţă. Inoculat în culturi celulare de hamster, şoarece şi şobolan induce transformarea cu apariţia de antigene T şi TSTA. Celulele transformate inoculate la hamster dau tumori şi animalele au anticorpi care reacţionează cu antigenul T şi celulele tumorale proprii dar şi cu SV40 şi JC.

Genomul ambelor virusuri, JC şi BK, este integrat în genomul gazdă.

2. FAMILIA ADENOVIRUS (ADENOVIRIDAE)

Sînt particule isometrice neînvelite cu simetrie icosaedrică, diametru 70—90 nm, 252 capsomere dintre care 12 pentamere (antigenic distincte de restul de 240 hexamere) purtătoare a unul sau două filamente prin intermediul cărora se ataşează la receptori.

Genomul este o singură moleculă DNA dubluspirală cu gr. mol. $20-30 \times 10^6$ conţinînd 48—61% $G + C$.

Asamblarea virionului are loc în nucleu.

Adenovirusurile mamiferelor *(Mastadenovirus)* posedă un antigen comun care diferă de acela al adenovirusurilor păsărilor *(Aviadenovirus)*.

Unele aglutinează hematii de diferite specii.

Sînt 32 tipuri antigenice de mastadenovirusuri umane (1,3—33), 24 serotipuri simiene, apoi bovine, canine, equine, murine, ovine, porcine şi opossum şi şapte serotipuri de aviadenovirusuri.

Multe adenovirusuri sînt oncogene în condiţii determinate.

Tipurile 12, 18 şi 31 de adenovirus uman cauzează, după o latenţă de 90 de zile, *sarcoame* nediferenţiate la sediul de inoculare (mai rar şi la alte sedii) la hamster, şobolan şi şoarece nou-născuţi.

Tipul 7 determină de regulă limfoame şi limfosarcoame la 25% din hamsteri sugari inoculaţi, după o perioadă de latenţă de 160 zile.

Tipurile 3, 11, 14, 16 şi 21 determină tumori după o perioadă de latenţă care depăşeşte 160 zile.

Tumorile nu conţin virus infectant şi pot fi transplantate şi întreţinute nedefinit la animale adulte şi în culturi de celule.

3. TRANSFORMARE CELULARĂ CU PAPOVA- ŞI ADENOVIRUSURI

Spre deosebire de virusurile tumorale cu RNA care pot determina infecţia productivă fără să ucidă celula (ciclu productiv necitocid), *virusurile tumorale cu DNA determină* fie *ciclul productiv citocid* fie *ciclul transformant neproductiv* *, *alternativă care depinde de gazda celulară şi nu de virus.*

---

* O „unitate infectantă" care determină ciclul productiv („unitate replicantă") este echivalentă cu multiple particule virale (40—100 particule pentru SV40; cu alte virusuri pînă la 10 000).

O „unitate transformantă" pentru fibroblaşti de hamster este echivalentă cu 1 milion de particule virale. (Probabil numai una dintr-un milion este eficientă în transformarea celulei).

a) **Mecanisme de transformare.** Porțiunea din genomul viral standard care codifică activitatea transformantă este diferită și mai redusă cantitativ probabil jumătate) decît aceea codificînd replicarea virală și, prin aceasta, activitatea citocidă.

Celulele transformate nu conțin antigen capsidic viral nici acid nucleic infecțios (capabil să inducă ciclu productiv citocid).

Transformarea neoplazică a celulei ar putea fi :

(i) expresia genelor transformante a unui *virus defectiv* (lipsit de sau incomplet în porțiunea responsabilă de multiplicare), sau

(ii) rezultatul represiei de către mecanisme celulare a genelor esențiale pentru replicarea virusului din componența unui *virus standard.*

Au fost izolați numeroși mutanți condițional letali de papova sau adenovirus care sînt mutanți *ts* (temperatură — sensitivi) pentru capacitatea de replicare sau aceea de transformare, ceea ce a permis localizarea genelor responsabile de cele două categorii de activități.

Pe de altă parte, intervin și factori care țin de gazdă. Astfel, culturile celulare umane derivate de la pacienți cu kariotip anormal, de ex. sindromul lui Down (sau trisomia 21) și anemia lui Fanconi (o boală rară autosomală recesivă), sînt de 10—15 ori mai susceptibile la transformare prin virus SV40 decît celule diploide umane normale. Ambele tipuri de bolnavi prezintă un risc mult crescut de a face tumori maligne.

În celulele transformate există 7—60 molecule (copii) DNA viral (față de 10^6 molecule DNA în infecția citocidă) integrate în genom gazdă și exprimate parțial în mRNA specific viral cu gr. mol. mare ($< 1.5 \times 10^6$) care, transportat în citoplasmă, după fragmentare în molecule mai mici, instruiează ribozomii în sinteza de proteine tumorale sub formă de *noi antigene celulare, nevirale* (nu fac parte din virion) *codificate de virusul transformant* (deci specifice virusului care a indus tumora).

Genomul viral (total sau parțial) integrat în celula transformată *poate fi „salvat", „trezit" prin fuzionarea* celulelor* transformate cu celule susceptibile la virus ceea ce permite ca factori esențiali pentru maturarea virusului sau factori antirepresor din celula receptivă să treacă în celula transformată determinînd maturarea („salvarea") virusului.

b) **Antigene induse de virus în celula transformată**

Sînt de două tipuri :

(i) *antigene de transplantare (TSTA).* Animale imunizate cu virus *viu* sînt rezistente la proba cu doze mari (10^5—10^6) de celule transformate sau tumorale și care nu conțin virus, în timp ce animale neimune fac tumori după inocularea de 10—100 celule.

Protecția nu ține de anticorpii antivirali circulanți ci de celule cu funcție anticorp apărute în organismul gazdă față de antigenele „de transplant" induse de virus transformant pe suprafața celulelor. Apărarea specifică imună celulară rejectează celulele devenite străine ca urmare a transformării induse de virus și instalarea tumorii este inhibată.

---

* Posibilă cu ajutorul „factorului de fuziune" prezent în structura învelișului virusului Sendai (paramyxovirus). Se folosește ca agent de fuzionare virus Sendai inactivat prin iradiere cu UV.

(ii) *Antigen tumoral (antigen T).* Antigenul T apare în nucleul celulei tumorale sau a celulei transformate în vitro. Este diferit de antigenele capsidei virale.

În serul animalelor purtătoare de tumoră apar anticorpi specifici anti-T.

Antigene T imunologic identice cu acele din celule tumorale sau transformate in vitro sînt sintetizate şi în cursul infecţiei citocide, în fază precoce, înainte de sinteza de DNA viral sau de proteină capsidică.

Sinteza antigenului T nu este inhibată de substanţe care inhibă sinteza DNA (citozina arabinoică, ioddeoxiuridina) şi în schimb este inhibată de droguri care suprimă sinteza RNA pe matriţă DNA (dactinomicină) sau sinteza proteinelor (cycloheximidă) sau prin interferon aplicat înainte de infecţie.

Antigenul T este sintetizat şi în infecţia virală abortivă a celulelor rezistente (care nu produc virus infecţios sau antigen viral capsidic).

Posibilitatea intervenţiei de mecanisme similare în neoplazii umane este investigată intensiv.

4. FAMILIA HERPESVIRUS (HERPETOVIRIDAE)

Virusul constă în capsidă cu diametru 120—150 nm înconjurată de un înveliş conţinînd lipide. Capsida de formă icosadeltaedrică este compusă din 162 capsomere şi conţine un miez constînd din DNA înfăşurat pe un mosor din proteină.

În virion sînt cca 33 specii de proteine cu gr. mol. pînă la 290.000.

Genomul constă din DNA dubluspiral linear cu secvenţe terminale monospirale, gr. mol. $92—102 \times 10^6$ şi 33—74% G + C.

Multiplicarea nucleocapsidei are loc în nucleul celulei iar membrana glico-proteino-lipidică este aplicată în timpul extruziei virionului din nucleu în reticulul endoplasmic şi derivă din lamela internă a membranei nucleare.

Marginaţia cromatinei şi formarea de incluzii nucleare (tip A Cowdry) sînt caracteristice. Sînt numeroase herpesvirusuri la vertebrate (om, maimuţă, cal, bou, porc, oaie, cîine, pisică, găină, alte păsări, şarpe, broască, peşte). S-au descris forme similare la o stridie (Mollusca) şi un fung.

a) **Tumori naturale şi experimentale cauzate de herpesvirusuri animale.** La animale şi păsări există herpesvirusuri care determină infecţii latente persistente (cu genom viral integrat) asociate cu tumori maligne:

(i) boala lui *Marek* este o neurolimfomatoză a găinii cauzată de un herpesvirus latent,

(ii) virusul herpetic agentul adenocarcinomului renal la broască (*Lucké*);

(iii) virusul herpetic al iepurelui induce limfom *(Hinze)* după inoculare la iepurele „*cotton-tail*" (în perioada de înţărcare);

(iv) *herpesvirus saimiri (Melendez)*, al maimuţei-popîndău şi *herpesvirus ateles* induc limfoame după inoculare la maimuţa-bufniţă şi marmoset *(Sanguinus oedipus)*.

Cu o tulpină atenuată de virus Marek a fost posibilă vaccinarea găinilor contra neurolimfomatozei.

b) **Tumori experimentale asociate cu herpesvirus uman.** Virusul herpetic uman de tip 2 agentul herpesului prevalent genital (transmis pe cale venerianǎ) dar şi HSV—1 al herpesului oral, modificate prin iradiere cu UV sau fotoinactivare, determină după inocularea în culturi celulare de embrion de hamster sau fibroblaşti de embrion uman o infecţie persistentă *transformantă*; celulele transformate inoculate la hamster sugar produc tumori la cca 50% din animale.

5. STĂRI NEOPLAZICE UMANE ASOCIATE CU VIRUSURI DNA ONCOGENE

a) **Papovavirusuri şi adenovirusuri.** Cu foarte puţine excepţii, tumorile solide produse la animale de laborator cu *papova- şi adenovirusuri* nu conţin virus infectant sau acid nucleic viral infectant şi aceasta ar explica eşecurile încercărilor de izolare de virusuri din tumori solide umane prin metode uzuale.

(i) *Încercări de decelare a genomului viral integrat.* Întrucît în celule transformate de virusuri DNA oncogene apare mRNA viral (transcripte) s-a încercat decelarea acestuia în tumori umane prin *metoda hibridizării moleculare RNA : DNA* cu DNA extras din virusurile suspectate a avea rol cauzal.

Datele obţinute pînă în prezent cu DNA din adenovirusuri sînt negative.

Încercările de complementare a unui eventual virus defectiv în celule tumorale *prin fuziune celulară* cu celule permisive de asemenea au rămas negative pînă în prezent.

(ii) *Cercetări imunologice.* Apariţia de antigen T indus de virus în celule tumorale (sau în culturi celulare) şi de anticorpi T în circulaţia animalului purtător de tumoră au incitat cercetări similare la om, cu rezultat negativ.

Carcinoamele tractului gastrointestinal conţin un antigen care lipseşte în celulele intestinale la adult dar este prezent în celulele intestinului embrionar, *antigenul carcinoembrionar (CEA)*, probabil rezultînd din derepresia unei gene, care se exprimă numai în perioada embrionară, ca urmare a transformării canceroase.

Similar, în cancerul primitiv de ficat, testicol şi posibil alte tumori, reapare sinteza de *alfafetoproteină*.

b) **Stări neoplazice umane asociate cu herpesvirusuri**

(i) *Virusul Herpes simplex tip 2 (HSV—2) şi carcinomul cervical invaziv al uterului.* Studii seroepidemiologice relevă o asociere evidentă între HSV—2 şi carcinomul cervical. Stările considerate precancer invaziv (displazia cervicală şi carcinom *in situ*) sînt de asemenea asociate cu o incidenţă crescută de anticorpi serici anti-HSV—2.

Asocierea poate fi o covariaţie (femeile cu cancer cervical au şi incidenţă crescută de infecţii cu HSV—2) şi nu o relaţie etiologică (HSV—2 este cauza cancerului cervical).

Sînt necesare studii lămuritoare.

(ii) *Virusul Epstein-Barr (EBV) și neoplazii umane.* EBV, agentul etiologic al mononucleozei infecțioase, boală larg răspîndită la copii [*] și tineri, este asociat cu două neoplazii umane:

— Limfomul lui Burkitt, o tumoră localizată de predilecție la maxilar, în particular la copii în zone calde și umede din Africa și Noua Guinee, în arii asociate cu incidență mare de malarie. Infecția EBV este foarte precoce, de la 2—3 ani vîrstă. Rareori limfomul Burkitt este semnalat și în alte părți pe glob.

Argumentele în sprijinul ipotezei relației etiologice cu EBV constau din:
1) bolnavii cu limfom Burkitt au titruri mari de anticorpi EBV;
2) în linii de limfoblaste derivate din tumoră Burkitt sînt totdeauna exprimate antigene EBV, care pot fi decelate prin imunofluorescență și fixarea complementului, sau cel puțin conțin DNA proviral EBV decelabil prin tehnica hibridizări moleculare cRNA/DNA [**].
3) EBV poate transforma și altera comportamentul leucocitelor umane normale în cultură, de o manieră analoagă celei a virusurilor tumorale animale.

— Carcinomul postnazal (nazofaringean) este prezent la bărbat în populații de chinezi în Asia de sud-est cu incidență mult crescută în raport cu alte populații.

Bolnavii prezintă anticorpi EBV în titru mare decelabili față de virus EBV prezent în celule limfoblastoide derivate din limfom Burkitt.

Antigen nuclear EBV (decelat prin imunofluorescență) apare în limfocite derivate din tonsila palatină la 76% din bolnavi cu tonsilită exsudativă recurentă, unii prezentînd și otită medie seroasă. EBV inoculat la gibbon induce tonsilită exsudativă (nu acută).

Titruri mari de anticorpi EBV se găsesc și la bolnavi cu boli limfoproliferative cum sînt boala lui Hodgkin și leucemia cronică limfatică și de asemenea, în asociație cu alte stări patologice ne-neoplazice ca de exemplu sarcoidoza, lupus eritematos sistemic și lepra lepromatoasă. Clarificarea acestor asocieri necesită cercetări în continuare.

BIBLIOGRAFIE

1. ADAM E., KAUFMAN R.H., MELNICK J.L., LEVY A.N., RAWLS W.E.: Seroepidemiologic Studies of Herpesvirus type 2 and Carcinoma of the Cervix IV. Dysplasia and Carcinoma *in situ*. *Amer. J. Epidemiol.*, *98*, 2, 77.87, 1973.

2. BARTLETT G.L., PURNELL D.M., KREINDER J.W. BCG Inhibition of Murine Leukemia: Local Suppression and Systemic Tumor Immunity Require Different Doses. *Science*, *191*, 299—301, 1976.

---

[*] Prin tehnici imunoserologice și prin hibridizare moleculară cRNA/DNA s-a demonstrat persistența genoamelor CMV (citomegalovirus) și EBV în linii celulare limfoblastoide derivate de la sugar cu infecție congenitală. EBV stimulează proliferarea limfocitelor in vitro și este preferențial asociat cu limfocitul B.

[**] În celule limfoide din biopsii de tumoră Burkitt sau carcinom nazofaringean se găsesc multiple cópii de genom viral EBV sub formă de DNA dubluspiral circular închis covalent. Aceste genome pot fi integrate în cromozomul gazdă sau libere, neintegrate (episomi).

3. BAST R.C., ZBAR B., BORSOS T., RAPP H.J.: BCG and Cancer. *N. Engl. J. Med.*, *290*, 1413, 1974.

4. BENVENISTE R.E., HEINEMANN R., WILSON G.L., CALLABAN R., TODARO G. J: Detecion of Baboon Type C Viral Sequences in Various Primate Tissues by Molecular Hybridization. *J. Virol.*, *14*, 56–67, 1974.

5. BLYTH W.A., HILL T.J., FIELD H.J., HARBOUR D.A.: Reactivation of Herpes Simplex Virus Infection by Ultraviolet Light and Possible Involvement of Prostaglandins. *J. Gen. Virol.*, *33*, 547–550, 1976.

6. CULLITON B.J.: Cancer Virus Theories: Focus of Research Debate. *Science*, *177*, 44–47, 1972.

7. DUFF R., RAPP F.: Oncogenic Transformation of Hamster Embryo Cells After Exposure to Inactivated Herpes Simplex Type 1. *J. Virol.*, *12*, 2, 209–217, 1973.

8. EVANS R., ALEXANDER P.: Mechanism of Immunologically Specific Killing of Tumo cells by Macrophages. *Nature*, *236*, 168–170, 1972.

9. FREEMAN A.E., KELLOFF G.J., GILDEN R.V., LANE W.T., SWAIN A.P., HUEBNER R.J.: Activation and Isolation of Hamster Specific C-Type RNA Viruses from Tumors Induced by Cell Cultures Transformed by Chemical Carcinogens. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, *68*, 2383, 1971.

10. FRENKEL A., ROIZMAN B., CASSAI E., NAHMIAS A.: A DNA Fragment of Herpes Simplex 2 and Its Transcription in Human Cervical Cancer Tissue. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, USA, *69*, 3784, 1972.

11. GALLAGHER R.E., GALLO R.C.: Type C RNA Tumor Virus Isolated from Cultured Human Acute myelogenous Leukemia Cells. *Science*, *187*, 350–353, 1975.

12. GEERING G., AOKI T., OLD L.J.: Shared Viral Antigen of Mammalian Leukemia Viruses. *Nature*, *226*, 265, 1970.

13. GIANNI A.M., HUTTON J.R., SMOTKIN, D., WEINBERG R.A.: Proviral DNA of Moloney Leukemia Virus. Purification and Visualization. *Science*, *191*, 569–571, 1976.

14. KUCERA L.S., GUSDON J.P.: Transformation of Human Embryonic Fibroblasts by Photodynamically Inactivated Herpes Simplex Virus Type 2 at Supra Optimal Temperature. *J. Gen. Virol*, *30*, 2, 257–261, 1976.

15. KUCERA L.S., GUSDON J.P., EDWARDS I., HERBST G.: Oncogenic Transformation of Rat Embryo Fibroblasts with Photoinactivated Herpes Simplex Virus: Rapid *in vitro* cloning of Transformed Cells. *J. Gen. Virol.*, *35*, 3, 473–485, 1977.

16. MACKLER B.F.: Role of Soluble Lymphocyte Mediators in Malignant-Tumor Destruction. *Lancet*, *2*, 297–301, 1971.

17. McALLISTER R.M.: Viruses in Human Carcinogenesis. *Progr. Med. Virol.*, *16*, 48–85, 1973.

18. MELNICK J.L., WALLIS C.: Photodynamic Inactivation of Herpes Simplex Virus: A Status Report. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, *284*, 171–181, 1977.

19. MORAHAN P.S., SCHULLER G.B., SNODGRASS M.J., KAPLAN A.M.: Paradoxical Effects of Immunopotentiators on Tumors and Tumor Viruses. *J. Infect. Dis.*, *133*, Suppl. June., A.249, 1976.

20. NOWELL P.C. : The clonal Evolution of Tumor Cell Populations. *Science*, *194*, 23—28, 1976.

21. OROSZLAN S., SUMMERS M.R., FOREMAN C., GILDEN R.V. : Murine Type-C Virus Group-Specific Antigens : Interstrain Immunochemical, Biophysical, and Amino Acid Sequence Differences. *J. Virol.*, *14*, 6, 1559—1574, 1974.

22. SARMA P.S., TURNER H.C., HUEBNER R.J. : An Avian Leucosis Group-specific Complement Fixation Reaction : Application for the Detection and Assay of Non-cytopathogenic Leucosis Viruses. *Virology*, *23*, 313—321, 1964.

23. SCHWARTZ R.S. : Immunoregulation, Oncogenic Viruses, and Malignant Lymphomas. *Lancet*, *1*, 1266—1269, 1972.

24. SJÖGREN H.O. : Virus Induced Surface Antigens, pp. 261—286, in : *Défectivité, Démasquage et Stimulation des virus Oncogènes* No. 183, Ed. CNRS, Paris, 1970.

25. STRAND M., AUGUST T. : Type C RNA Virus Gene Expression in Human Tissue. *J. Virol.*, *14*, 1584—1596, 1974.

26. VETRI R.W., McLUNG J.E., SPRINKLE P.M. : Epstein-Barr Nuclear Antigen (EBNA) Carrying Lymphocytes in Human Palatine Tonsils. *J. Gen. Virol.*, 32, 455—460, 1976.

27. ZUR HAUSEN H., SCHULTE-HOLTHAUSEN H., KLEIN G., HENLE W., HENLE P., CLIFFORD P., SANTESSON L. : EBV DNA in Biopsies of Burkitt Tumors and Anaplastic Carcinomas of the Nasopharinx. *Nature* (*London*), *228*, 1056, 1970.

XLV. PATOGENEZA INFECŢIEI VIRALE

Interrelaţia virus-organism constînd din pătrunderea şi multiplicarea virusului în ţesuturile gazdei, este un proces complex care se dezvoltă în trepte succesive după căi şi ritmuri particulare, caracteristice fiecărui virus sau grup de virusuri.

Infecţia virală poate avea efecte foarte diferite asupra unui organism variind de la infecţie asimptomatică (subclinică, inaparentă) la boală acută sau boală cronică ori la inducerea unei neoplazii maligne.

Patogeneza unei boli constă din cauzele, evenimentele şi efectele care se combină sau cumulează pentru a produce boala. Sub acest aspect patogeneza este o componentă esenţială a *Patologiei*, acea ramură de ştiinţe biologice care se ocupă de natura bolii prin studiul cauzelor, proceselor şi consecinţelor inclusiv alterările structurilor şi funcţiilor care se produc în cursul acestora.

Infecţia virală boală este un proces specific care începe prin alterări biochimice conducînd la tulburări şi leziuni morfologice structurale şi care se exprimă în semne * şi simptome ** caracteristice, decelabile şi măsurabile.

Este funcţia *clinicianului* să evidenţieze, evalueze şi interpreteze semnele şi simptomele şi este responsabilitatea *patologului* de a reconstrui cursul evenimentelor de la începutul şi pînă la terminarea bolii, bazat pe măsurători în dinamică a parametrilor morfologici, funcţionali, biochimici şi imunologici.

Patogeneza unei boli virale include: a) modul de pătrundere al virusului în organism; b) sediile replicării virale; c) căile de diseminare în organism prin care virusul ajunge la celulele susceptibile („ţintă"); d) efectele virusului asupra celulelor; e) răspunsul secundar al gazdei la agresiunea virală în teritoriul celular implicat (ex.: edem, inflamaţie); f) reacţiile de apărare a organismului, imunologice şi nespecifice ***.

Procesul trebuie completat cu calea de eliminare şi forma în care virusul părăseşte gazda deschizîndu-şi astfel drum spre altă gazdă.

---

* *Semn*: manifestare obiectivă sau fizică, măsurabilă a bolii.

** *Simptom*: fenomen anormal fizic sau psihic pe care îl resimte şi exprimă (subiectiv) bolnavul, ca de ex.: cefalee, dureri, fotofobie.

*** Răspunsul secundar al gazdei la agresiunea virală şi reacţiile de apărare imunologice şi nespecifice sînt tratate în cap. XLVI.

Asemenea volum de informaţii nu este încă complet pentru multe boli virale.

În atenţia cercetătorilor şi clinicienilor s-a impus timp îndelungat infecţia virală acută, epidemică, devenită clasică datorită violenţei semnelor şi simptomelor care o însoţesc.

Accentul în prezent este în schimbare.

Prevenţia bolii virale acute cu vaccinuri şi în parte, cu unele chimioterapice eficiente, au redus incidenţa, au adus sub control (febra galbenă) sau chiar au eradicat (variola în 1977) unele boli virale clasice.

Utilizarea antimetaboliţilor în chimioterapia cancerului şi terapia imunosupresivă au scos însă în evidenţă balanţa precară între gazdă şi virus existentă în alte tipuri de infecţii virale, *infecţia latentă* şi *infecţia persistentă*, care au existat şi înainte dar erau umbrite de manifestările zgomotoase ale infecţiei acute.

Ca urmare, aceste manifestări devin o problemă din ce în ce mai importantă atît pentru clinician cît şi patolog prin extinderea rolului etiologic al virusurilor în boli cronice şi stări neoplazice în care virusul, prezent sub alte forme structurale decît aceea de virion complet, poate fi demonstrat prin alte metode de laborator decît acele clasice.

A. CONTACTUL INFECTANT

Pentru a se perpetua, virusul trebuie să părăsească sursa de infecţie şi să fie transferat la o nouă gazdă receptivă pe care s-o infecteze. Eliminarea virusului din organismul în care a multiplicat (ex. : bolnav) are loc prin secreţii şi excreţii provenind din leziuni superficiale (ex. : piele, ochi) sau/şi din organe comunicînd cu exteriorul printr-o deschidere naturală (salivă, mucus, exsudat nazofaringean, secreţii vaginale, uretrale, materii fecale).

Transferul la o nouă gazdă se poate realiza :

(i) prin contact direct (ex. : muşcătura cîinelui rabic, contact sexual, sărut etc.) ;

(ii) prin intermediul obiectelor, alimentelor, apei contaminate cu secreţii sau excreţii infectante sau

(iii) pe calea aerului conţinînd picături de salivă sau mucus contaminate, „nuclei de picături" sau pulberi contaminate.

Un mod particular de părăsire a sursei îl prezintă arbovirusurile : virusul prezent în sînge este preluat de artropode hematofage (ţînţari, căpuşe) în ţesuturile cărora virusul se multiplică considerabil (vectori biologici) şi, prin înţepătură, este introdus într-o gazdă nouă.

Transfuzia de sînge, plasmă, ser uman *, transplantul de organ şi pătrunderile parenterale cu instrumente (seringi, ace, lanţete, instrumente stomatologice etc.) contaminate pot transmite virusurile hepatitei tip B şi tip A, CMV, E-B, boala Creutzfeld-Jakob.

Există trei modalităţi principale de realizare a contactului infectant :

— depunerea virusului pe suprafaţa ţesuturilor receptive (conjunctivă, epiteliu respirator, mucoasă intestinală) ;

---

* În 0,000024 ml se află suficient virus al hepatitei tip B pentru a infecta o nouă persoană.

— pătrunderea prin leziuni ale pielii și mucoaselor superficiale;
— inocularea prin înțepături de către unele artropode (sau prin manopere medicale cu instrumentar incorect sterilizat).

B. FACTORI CELULARI ȘI VIRALI ÎN PATOGENEZĂ

Efectele infecției virale asupra celulelor depind atît de caracteristici ale virusului (virulență, doză) cît și de susceptibilitatea celulelor.

1. VIRULENȚA

Capacitatea virusului de a multiplica și produce leziuni, boală sau moartea gazdei * diferă considerabil de la tulpină la tulpină de virus și este un proces controlat filogenetic în populația de virioni care le compun. Prin mutații succesive un *virus virulent* poate produce *mutanți atenuați* sau invers, să exalte virulența față de o gazdă.

Virulența unei tulpini de virus poate fi exprimată cantitativ prin titrarea DL_{50}, măsurarea dimensiunilor leziunilor, numărătoarea plajelor de liză, stabilirea timpului mediu cînd survine decesul etc. Efectele de virulență depind riguros de susceptibilitatea gazdei pe care se execută testarea (ex.: cultură de celule, șoarece sugar, embrion de găină).

— Adaptarea. Treceri în serie a unui virus pe o gazdă anumită tinde să selecteze variante adaptate cu virulență crescută față de acea gazdă și, adeseori, cu scăderea virulenței pentru alte gazde (ex.: poliovirusul prin adaptare la culturi celulare de rinichi de maimuță sau creier de șobolan își atenuează considerabil neurovirulența față de om și tulpini astfel obținute pot fi utilizate drept vaccin viu).

Tulpinile atenuate au markeri genetici care le diferențiază de tulpinile virulente.

2. ALTERĂRI CELULARE ÎN INFECȚIA VIRALĂ

Sînt patru modalități de răspuns al celulei la infecția virală: (1) fără modificări aparente, ca în infecția endosimbiotică; (2) efect citopatic și moarte ca în infecția cu virusuri virulente, (citocide); (3) hiperplazie urmată de moartea celulelor (ca de ex. formarea ulcerațiilor de către poxvirusuri pe membrana chorioalantoidiană a embrionului de găină) și (4) hiperplazie persistentă ca în transformarea tumorală a celulei.

a) **Efectul citopatic.** Alterările morfologice celulare care se termină cu moartea celulei sînt variate; se desprind cîteva tipuri: 1) rotunjirea celulelor devenite refringente și agregarea lor în grămezi („în strugure") mobile (adenovirusuri); 2) rotunjirea, contractarea și liza celulelor lăsînd resturi

---

* Termenii de *patogenicitate* și *virulență* sînt aproape sinonimi prin aceea că se referă la capacitatea virusului de a produce boala.

(enterovirusuri); 3) fuzionarea celulelor în *sinciţii mari* (virus respirator sinciţial); 4) construirea de focare mari de celule rotunjite (virus varicela-zoster).

Asemenea modificări ţin de tulburări metabolice şi alterări structurale dintre care mai importante sînt următoarele:

(i) *Efecte asupra sintezelor macromoleculare.* Numeroase virusuri deprimă chiar de la început sintezele celulare; DNA virusurile inhibă precoce sinteza DNA celular şi tardiv şi sinteza de RNA celular şi de proteine; invers, multe RNA-virusuri inhibă precoce sinteza RNA celular şi a proteinelor.

(ii) *Alterarea lizozomilor*, organite celulare conţinînd enzime hidrolitice a căror liberare în citoplasmă, prin alterarea membranei lizozomale, determină distrucţii celulare. Există multiple tipuri de alterări lizozomale în celule infectate cu virus: 1) O creştere *reversibilă* a permeabilităţii lizozomilor soldată cu ,,scăparea'' enzimelor în citoplasmă şi evidenţiată de capacitatea crescută de legare a roşului neutru (folosit pentru colorarea celulelor vii în testul plajelor) şi ca urmare celulele apar mai intens colorate (,,plaje roşii''). 2) Leziuni *ireversibile* rezultînd din ruperea lizozomilor şi descărcarea enzimelor în citoplasmă. Celulele nu mai fixează roşul neutru (,,plaje albe'').

Modularea efectului citopatic viral indus prin enzime lizozomale depinde de intervenţia a numeroşi factori.

Agenţii care *labilizează* membranele lizozomale sînt expunerea la radiaţii X, acţiunea fotooxidativă a coloranţilor acridinici (vezi inactivarea fotodinamică, cap. XLIII), toxine bacteriene (streptolizina A şi S, alfa-toxina stafilococică), detergenţi, vitamina A, incubarea la *p*H scăzut, anticorpul anticelular. Prin lezarea celulară, reduc şi capacitatea de sinteză a virusului.

Agenţii care *stabilizează* lizozomii sînt cortizonul şi steroizii înrudiţi, substanţe antihistaminice, cloroquina şi care reduc leziunile celulare, *fără să altereze sau chiar intensifică şi prelungesc producţia de virus* (ex.: infecţia cu virusul hepatitei şoarecelui; cu poliovirus în celule WI—38).

(iii) *Alterarea membranelor celulare.* Infecţia cu virusuri învelite induce modificări manifestate prin incorporarea de proteine virale în membranele celulare, proces care are loc înainte de formarea învelişului viral. Membranele celulare capătă astfel caracterele antigenice ale virusurilor şi ca urmare, uneori, capacitatea de a adsorbi hematii (hemadsorbţia pe celule infectate cu ortho- şi paramyxovirusuri).

Infecţia cu unele virusuri (herpesvirus, paramyxo-, rujeolic, oreionului etc.) determină *fuzionarea* celulei infectată cu celulele adjacente neinfectate prin contopirea membranelor citoplasmice * formînd celule gigante cu numeroşi nuclei *(policariocite)*.

(iv) *Efect citopatic fără sinteza de virus progen.* O concentraţie mare de virus sau proteină capsidică poate iniţia alterări celulare fără replicare de virus infectant: *efect toxic* **. De ex.: concentraţii mari de virus vaccinia ucid culturi de macrofage sau alte celule; virusul oreionului şi al bolii din

---

* Virusurile cu membrană ar servi ca punte între membranele celulelor adjacente sau intervine o enzimă citolitică tip hemolizină (,,factor de fuziune celulară'') provenind din lizozomii labilizaţi de virus sau alt factor.

** Analog ,,lizei din afară'' produsă de adsorbţia a numeroşi fagi T_2 pe E. coli, fenomen care se soldează cu dezintegrarea peretelui bacterian şi moartea celulei fără replicarea virusului.

Newcastle (paramyxovirusuri) lizează hematii (au hemolizină) sau determină fuzionarea celulelor (au „factor de fuziune celulară") ; antigenele fibra pentonei și pentona capsidei adenovirusului sînt responsabile de efectul citopatogen caracteristic (vezi mai sus).

Alterări celulare în grade diferite au loc și în sinteza incompletă de virus (infecția abortivă) ca de pildă cu virus gripal în celule HeLa.

Efecte toxice virale se observă și la animale :

1) șoareci inoculați *intravenos* cu virus concentrat (ex. : virus gripal urlian, vaccinal) mor în decurs de 24 ore cu hemoragii și necroze celulare în diferite organe dar fără multiplicare virală ;

2) șoareci inoculați *intracerebral* cu virus gripal în concentrații mari mor cu leziuni de necroză a celulelor din creier și prezență de virus incomplet sintetizat ;

3) inoculare *intranazală* la șoarece de virus Newcastle produce o pneumonie masivă, fără replicare de virus.

b) **Incluzii.** Sînt formațiuni intracelulare din material nou alcătuite prin două mecanisme :

1) acumulare de virioni și componente virale (acid nucleic, proteină) neasamblate în nucleu (ex. : adenovirus), în citoplasmă (ex. : virus rabic, corpusculii Babeș-Negri) sau în nucleu și în citoplasmă (ex. : rujeolă). Acumularea acestui material duce la dezorganizare și distrucție celulară urmată de moartea celulei.

2) Alte incluzii se constituie ca un fel de „cicatrice" în ariile care au servit anterior ca sediu pentru replicarea virusului și în care nu se mai găsesc virioni sau componente virale (ex. : incluziile eozinofile intranucleare în infecția cu herpesvirus).

c) **Aberații cromozomale *.** În celule din *culturi primare*, o varietate de virusuri induc aberații cromozomale ca de pildă rupturi **, contracții ***, rearanjări (mutații) și chiar modificări ale numărului de cromozomi.

Virusul herpes-zoster în celule umane întrerupe ciclul mitotic în metafază, cromozomii se contractă puternic, unii se fragmentează, se formează micronuclei.

Virusurile varicelei, rujeolei și rubeolei induc anomalii cromozomale în leucocite la bolnav în infecția naturală și experimental în culturi celulare.

Virusurile DNA oncogene SV40, polyoma, adenovirus 12, herpesvirus induc variate anomalii cromozomale la jocul întîmplării.

În unele situații însă (ex.: virusul herpesului simplu sau polyoma în culturi celulare de hamster) leziunile cromozomale sînt sistematice : rupturile apar în regiunea 7 a cromozomului 1 și în regiunea 3 a cromozomului X și sînt asociate cu multiplicarea virusului în clonele de celule persistent infectate. (Asemenea aberații cromozomale sînt astăzi intensiv căutate în celule transformate de virusuri oncogene).

d) **Transformarea celulară.** Infecția cu anumite virusuri puțin virulente poate avea ca rezultat producerea de tumori sau leucemii (vezi cap. XLIV). Efectele virusurilor tumorale asupra celulei sînt : 1) stimularea sintezei

---

* Orice modificare a structurii sau numărului de cromozomi în raport cu caryotipul normal.
** Discontinuitate în structura cromozomului interesînd întreaga secțiune transversală.
*** Îngroșarea și scurtarea cromozomului.

DNA celular (ex. : polyoma); 2) alterări ale suprafeței celulei prin incorporare de noi specificități antigenice induse de virus însă distincte de acelea prezente pe suprafața virionului; 3) aberații cromozomale; 4) alterarea caracterelor de creștere a celulelor.

Conversia celulei normale, ca urmare a infecției virale, în celulă malignă este denumită *transformare*.

e) **Efectul final** al interacțiunii virus-celulă depinde de raportul între gradul relativ de leziuni cu caracter *degenerativ* și acela al stimulării *proliferative* provocate în celule și organe țintă. Din acest punct de vedere, virusurile se distribuie într-un larg gradient avînd la o extremă virusurile *citocide* (ex. : poliovirus, febră aftoasă, Vest Nil) și la cealaltă virusurile cauzînd exclusiv *proliferare celulară* (ex. : oncornavirusurile). Între acestea se plasează numeroase virusuri ca de pildă poxvirusurile (virusul vaccinia etc.), papilomavirusuri care produc inițial proliferarea celulelor infectate urmată apoi de liză și necroză.

3. SUSCEPTIBILITATE CELULARĂ

Joacă un rol esențial în infecția virală.

a) **Mecanisme.** În general, diferențele de susceptibilitate la infecția virală a celulelor depind de faze precoce ale interacțiunii virus-celulă : atașarea la receptori, penetrarea în celulă, liberarea acidului nucleic infectant (vezi cap. XL).

Rezistența poate fi rezultatul *eșecului atașării* virionilor la receptorii celulari *, ca de exemplu în cazul virusurilor polio și coxsackie : animalele receptive posedă receptori pentru capsida virusului respectiv iar animale rezistente nu posedă receptori.

Omogenate de organe sau țesuturi receptive adsorb virusul spre deosebire de omogenatele de organe nereceptive. Fracțiunea membrană cu funcție receptor a fost separată și purificată. Fracțiunea provenind din celule receptive pusă în contact cu poliovirus induce decapsidare și liberarea nucleoproteinei virale.

La cinci zile de la infecția pe cale nazală cu virus gripal la dihor, distribuția virusului în 16 țesuturi, cercetate prin metode foarte sensibile, a fost următoarea : 98% din virus se află în mucoasa nazală, 2% în pulmon, 0,001% în trahee și 0,1% în esofag ; restul țesuturilor nu conțin virus. După inoculare intravenoasă numai mucoasa nazală reține virus. Distribuția reflectă susceptibilitatea țesuturilor la virusul gripal.

Experimental în culturi de organ (trahee, bronșii), virusul gripal este multiplicat exclusiv de celulele epiteliului ciliat al tractului respirator și de celulele columnare ale mucoasei bronșice.

Mixajul fenotipic (vezi cap. XLI) subliniază rolul receptorilor în susceptibilitatea celulei : transcapsidarea (ex. genom poliovirus incorporat în capsidă de Coxsackie virus) modifică spectrul de afinitate față de gazde în conformitate cu exigențele capsidei.

---

* Ca și în cazul fagilor, celule rezistente prin lipsa receptorilor pentru atașarea virionului pot fi susceptibile la infecția cu acidul nucleic extras din virion.

Susceptibilitatea poate varia cu vîrsta.

Prezența sau absența receptorilor pe suprafața celulei depind de factori fiziologici și genetici.

b) **Factori fiziologici**. Organe sau țesuturi nesusceptibile la virus *in situ* la animal, pot deveni foarte receptive după transformare în *culturi celulare* (ex. în rinichiul de maimuță vie nu se multiplică poliovirus în schimb în cultura de celule renale se obțin titruri considerabile de virus ; în omogenate din culturi de celule renale sînt receptori pentru poliovirus care lipsesc însă în omogenatul de rinichi).

Maturizarea animalelor poate induce schimbări marcante în susceptibilitatea la virusuri : în general, animale nou-născute sînt mult mai receptive (Coxsackie, herpesvirus) ; altele (poliovirus, virusul choriomeningitei limfocitare-CML) sînt mai virulente față de animale adulte.

În sistemul virus Coxsackie-șoarece variația de susceptibilitate în raport cu vîrsta depinde de activitatea receptor exprimată pe membrana celulară și de sinteza interferonului și anticorpilor.

Variația de susceptibilitate la CML depinde de un mecanism complet diferit (vezi cap. XLVII).

Pe de altă parte, capacitatea celulelor de a răspunde prin diviziune mitotică variază de asemenea și în funcție de tipul celulei. Se disting trei grupe :

(i) *Celule „labile"* care se divid continuu toată viața înlocuind celulele „uzate" care se elimină mereu ca de ex. suprafețele epiteliale și celulele din sistemul hemolimfopoietic.

(ii) *Celule stabile* sînt relativ inactive în viața adultă dar posedă un potențial de proliferare intensă dacă sînt stimulate cum sînt de exemplu derivații țesutului mezenchimal (fibroblaștii, chondroblaști, osteoblaști) și celulele parenchimale ale majorității organelor glandulare (ex. : ficat, rinichi).

(iii) *Celule permanente* care în viața extrauterină au pierdut capacitatea de a se divide (ex. : neuronii, celula musculară) și a căror necroză prin infecție virală este urmată de pierderea definitivă a funcțiilor dependente (dacă nu este posibilă o compensare).

c) **Factori genetici**. Controlul genetic al susceptibilității la virus a fost demonstrat prin multe exemple : linii de șoareci cu receptivitate modificată moștenibilă față de arbovirusuri, virusul hepatitei murine, virus gripal etc. Variația genetică de susceptibilitate a șoarecelui față de virusul hepatitei murine (MHV) implică diferențe în alele a unei singure gene a cărei produs este activitatea receptor. Procesul este interdependent. Astfel, a fost izolată o linie de șoareci C3H rezistentă la MHV care diferă de linia C3H parentală printr-o genă, gena de receptivitate MHV. Macrofagele peritoneale de la cele două linii de șoareci adsorb și incorporează virusul MHV dar replicarea virusului are loc numai în macrofagele liniei susceptibile. Apoi, din virusul MHV s-a izolat un mutant, MHV-C3H, care a devenit din nou capabil să infecteze linia C3H devenită rezistentă.

Starea de susceptibilitate a șoarecilor de linii genetice diferite la infecția cu arbovirusuri și virusul hepatitei murine *este corelată cu aceea a macrofagelor* lor de aceea poate fi testată *in vitro*.

C. MODELE PATOGENETICE DE BOLI VIRALE

Contactul infectant este implantarea și multiplicarea virusului la „poarta de intrare” și în ganglionii limfatici regionali; de aici virusul difuzează spre organul țintă în care, multiplicarea virusului depășind pragul critic, determină apariția de leziuni celulare și, corelat, a semnelor și simptomelor caracteristice bolii.

(i) *Relația virus-macrofage* este de importanță capitală în determinarea susceptibilității organismului la infecția virală și implicit în patogenia infecției virale, legat de poziția anatomică și de funcțiile de control exercitate de macrofage la *bariera sînge-organ* (în organe al căror pat vascular este alcătuit din sinusoide). Astfel, *macrofagele liniază sinusoidele* din ficat, splină, măduva osoasă, sinusurile din ganglionii limfatici, liniază epiteliul respirator, cavitățile pleurală, peritoneală, sînt în număr mare și se mișcă în sînge și în spațiile din țesutul conjunctiv în întreg organismul (tabel 109).

Funcțiile principale constau în încorporarea de material străin particulat (inclusiv virusuri). Controlul cel mai eficient îl exercită *macrofagele din ficat* (celule Kupffer) unde ocupă o poziție strategică în sinusoidele hepatice formînd o linie *funcțional continuă* astfel că nici o particulă din sînge (inclusiv virus) nu are acces la hepatocit fără trecerea prin macrofag.

Comportamentul față de virusuri al macrofagelor (inactivare, multiplicare sau transport pasiv) variază în raport cu virusul și cu factori gazdă cum sînt: factorii rezistenței moștenite, inducerea producției de interferon, capacități metabolice diferite la macrofage din sedii diferite, diferențe funcționale între macrofage stimulate și nestimulate, de la gazde mature sau imature.

a) Virusurile incorporate și degradate (digerate) de macrofage nu sînt patogene pentru gazda respectivă (ex.: virusul vaccinia și virusul gripal pentru șoarece sau virusul variolei șoarecilor pentru șobolan *.

Tabelul 109

Celule fagocitare

Microfage	Macrofage (constituind, funcțional, *sistemul reticulo-endotelial*)				
leucocite polimorfonucleare neutrofile	țesutul conjunctiv din organe	sînge	sistem nervos central	splină, ficat, suprarenale, măduva osoasă hipofiza anterioară	țesuturile limforeticulare, splina, ganglioni limfatici, măduva osoasă, timus
leucocite euzinofile	histiocite	monocite	microglia	celule liniind sinusurile	celule reticulare

(după Humphrey, 1971)

---

* Inocularea pe cale transcutanată sau intravenoasă la șobolan a virusului variolei șoarecelui (ectromelia) nu este urmată de infecție deoarece virusul este captat de macrofage mobile și macrofage din ficat (celule Kupffer) și degradat. Inocularea direct în canale biliare este însă urmată de infecția ficatului întrucît este depășită bariera sînge-organ controlată de macrofage.

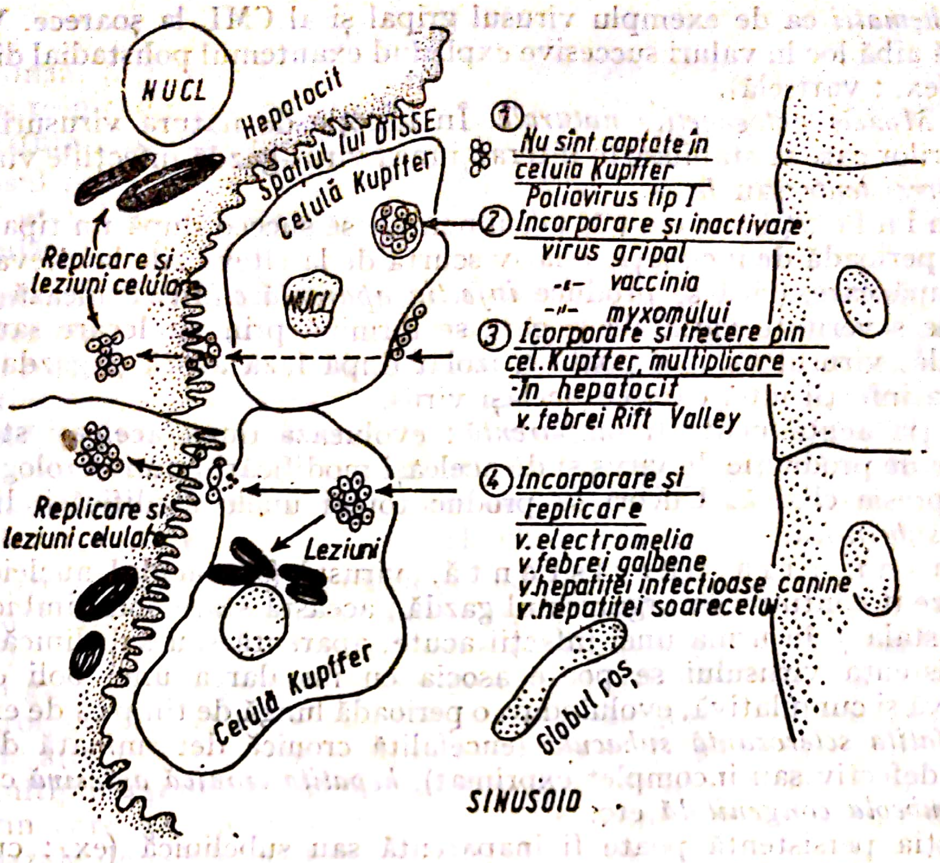

NUCL
Hepatocit
Spaţiul lui DISSE
Celulă Kupffer
NUCL
Replicare şi leziuni celulare
Replicare şi leziuni celulare
Leziuni
Celulă Kupffer
Globul roş
SINUSOID
① Nu sînt captate în celula Kupffer
Poliovirus tip I
② Incorporare şi inactivare
virus gripal
-"- vaccinia
-"- myxomului
③ Icorporare şi trecere pin cel. Kupffer, multiplicare în hepatocit
v. febrei Rift Valley
④ Incorporare şi replicare
v. electromelia
v. febrei galbene
v. hepatitei infecţioase canine
v. hepatitei soarecelui

Fig. 236 : Rolul celulelor Kupffer în patogeneza hepatitelor virale.

Virusurile care nu sînt captate (*1*) sau sînt inactivate în celule Kupffer (2) nu infectează hepatocite spre deosebire de acele care trec nemodificate prin (*3*) sau sînt multiplicate (*4*) de macrofage (Adaptare după *Mims, C.A.*). (*Sabesin, S.M.* şi *Koff, R.S.*)

b) virusurile care multiplică în macrofag sînt patogene pentru gazdă : pătrunse în macrofag sînt la adăpost de anticorpi, se multiplică, sînt vehiculate la distanţă, pot extravaza, depăşesc bariera sînge-organ (ex. : virus rujeolic, arbovirusuri, poxvirusuri etc.).

(ii) *Viremia.* Capacitatea virusului de a multiplica în macrofage este unul din mecanismele importante ale patogenezei prin controlul viremiei şi al barierei sînge-organ.

Viremia, primară sau secundară, proces esenţial în patogeneză, se constituie atunci cînd producţia şi eliberarea de virus din macrofage şi celule susceptibile * depăşesc clearence-ul exercitat în special de macrofagele libere şi celulele reticuloendoteliale din ficat.

Virusul în sînge poate fi liber (*viremie plasmatică*) ori *asociat cu celule albe*, plachete, limfocite şi mai ales monocite ca de exemplu în rujeolă, variolă,

---

* Sînt unele arbovirusuri (Sindbis, Vest Nil) care, aidoma rickettsiilor, multiplică şi în *endoteliul capilarelor* şi vaselor mai mari contribuind astfel la creşterea viremiei plasmatice şi, posibil, la traversarea barierei sînge-organ, în acele organe al căror pat vascular este alcătuit din capilare (sistem nervos central, pancreas, testicul).

În celule endoteliale vasculare multiplică şi virusul jigodiei la cîine, virusul encefalitei vulpilor argintii, virusul gripal la embrion de găină.

sau cu hematii ca de exemplu virusul gripal și al CML la șoarece. Viremia poate să aibă loc în valuri succesive explicînd exantemul polistadial din unele viroze (ex. : varicelă).

(iii) *Modele patogenetice naturale.* În funcție de natura virusurilor și a raporturilor care se stabilesc în interacțiunea virus-gazdă infecțiile virale sînt *acute, persistente* sau *lente.*

— În infecția acută evenimentele se succed după un tipar previzibil : o perioadă de incubație relativ scurtă de la cîteva zile la cîteva săptămîni, după care, dacă se produce *infecția aparentă clinic,* urmează o *boală acută,* de severitate variabilă și care se termină prin vindecare sau deces. De regulă, virusul nu mai poate fi izolat după faza acută și gazda devine imună la infecții ulterioare cu același virus.

Infecția acută poate fi *inaparentă* : evoluează după aceleași stadii, se însoțește de producție de virus și de aceleași modificări imunoserologice însă fără expresie clinică. Uneori se produc totuși unele modificări discrete : *infecție subclinică.*

— În infecția persistentă, virusul (sau acidul nucleic viral) este prezent continuu în organismul gazdă ; această stare endosimbiotică se poate instala și în urma unei infecții acute, aparentă sau subclinică.

Persistența virusului se poate asocia cu instalarea unei boli cronice, progresivă și cumulativă, evoluînd pe o perioadă lungă de timp ca de exemplu *panencefalita sclerozantă subacută* (encefalită cronică determinată de virus rujeolic defectiv sau incomplet exprimat), *hepatita cronică agresivă* cu virus tip B, *rubeola congenitală* etc.

Infecția persistentă poate fi inaparentă sau subclinică (ex. : cu virus hepatitic tip B, cu adenovirus etc.).

În ambele tipuri de infecție persistentă virusul nu totdeauna poate fi izolat ; de regulă se află sub forma de virus incomplet, sau defectiv, și ocazional cu producție de virus complet ; reactivarea episodică se însoțește de obicei de semne clinice caracteristice infecției acute (ex. : herpes recidivant, episoade de acutizare a hepatitei cronice persistente etc.).

— Infecțiile virale lente sînt un tip cu totul diferit de infecție, determinat de virusuri din subfamilia Lentivirinae caracterizat de : a) perioadă inițială foarte lungă de latență, durînd între cîteva luni și cîțiva ani ; b) o evoluție clinică lentă progresivă prelungită mult în timp și agravîndu-se treptat pînă la instalarea unei boli grave, de regulă cu sfîrșit letal ; c) cel puțin în prima parte a evoluției, leziunile anatomice apar limitate la un singur organ sau sistem. (ex. : boala Scrapie la oaie, boala Creutzfeld-Jacob la om etc.).

1. INFECȚII VIRALE ACUTE

Există trei modele esențiale de expresie a infecției virale acute : *localizată, diseminată,* și *inaparentă.*

a) **Infecții localizate.** Multiplicarea virusului și leziunile celulare rămîn localizate la „poarta de intrare" (ex. : piele, anumită zonă a tractului respirator sau digestiv), unde virusul se poate transmite la celule învecinate prin contact celular sau difuzare în spațiile intercelulare („extinderea porții de intrare"). Se formează astfel o singură leziune sau un grup de leziuni (ex. : negii, *molluscum contagiosum*). În infecțiile mai puțin strict localizate virusul poate difuza, prin secreţii sau excreţii, spre alte zone şi cavităţi anexă ale tractului respirator sau, respectiv, tractului gastrointestinal ca de pildă virusurile guturaiului epidemic, virusuri gripale, enterovirusuri.

Virusul poate difuza şi la sedii mai îndepărtate dar această diseminare nu este esenţială sau caracteristică bolii (viroză respiratorie, gastroenterită virală).

b) **Infecţii diseminate.** Procesul se dezvoltă în stadii succesive din care se pot deosebi : 1) *multiplicarea primară* la sediul de intrare şi în ganglionii limfatici regionali ; 2) difuzarea virusului progen pe cale circulatorie sanguină şi limfatică (*viremia primară*) la alte organe receptive la virus ; 3) *multiplicarea secundară* importantă a virusului în aceste ţesuturi ; 4) difuzarea virusului pe cale circulatorie (*viremie secundară*) pînă la organele-ţintă * ; 5) multiplicarea abundentă în organe ţintă unde se produc leziuni celulare, modificări patologice şi, ca urmare, apar semnele clinice de boală.

(i) *Viroze eruptive* (*cu exantem şi enantem*). Exemplul clasic de infecţie diseminată amănunţit studiat este *variola şoarecelui* sau *ectromelia* (vezi fig. 237) : virusul intră printr-o leziune a pielii şi se multiplică local difuzînd rapid în ganglionii regionali în care de asemenea multiplică. Virusul preluat de macrofage difuzează pe cale limfatică şi sanguină (*viremie primară*) şi ajunge în alte organe receptive în special ficat şi splină în care (tot în macrofage) multiplică şi determină leziuni necrotice ; de aici rezultă *viremia secundară* prin care diseminează în organul-ţintă care este constituit din straturile bazale de celule epidermice, celulele conjunctivale şi din vecinătatea foliculilor limfatici în intestin. În tegument virusul se multiplică abundent şi determină leziuni papuloase (*raş*) care pot evolua spre vezicule şi apoi pustule şi cruste (*exantem generalizat*) ; odată cu apariţia *raşului papular* se termină *perioada de incubaţie* (asimptomatică) şi începe perioada de boală**.

Ocazional, virusul se poate localiza în celule epiteliale în rinichi, pulmon, glande submaxilare, pancreas.

Deschiderea leziunilor de exantem şi enantem, prin ulcerare, eliberează în mediu cantităţi mari de virus.

Relaţiile temporale între multiplicarea virală în diferite organe, producerea şi evoluţia leziunilor, apariţia şi creşterea titrului anticorpilor sînt date în fig. 247 din care rezultă că boala clinică începe după ce virusul a difuzat în întreg organismul şi a atins titrurile maxime în sînge şi splină.

Modelul infecţiei diseminate se aplică atît *virozelor cu exantem* (variolă, rujeolă, rubeolă) cît şi unor infecţii virale fără exantem ca de pildă poliomielita sau parotidita epidemică în care însă organul ţintă este sistemul nervos central (vezi fig. 237) şi, respectiv, glanda salivară şi eventual alte glande.

---

* Timp de mulţi ani, înainte de utilizarea metodelor care permit studiul structural al virionilor, virusurile animale erau clasificate în primul rînd în raport de tropismul lor faţă de ţesuturi în dermotrope viscerotrope, neurotrope. *Organul-ţintă* al unui virus (ţesutul în care se află celulele susceptibile) şi tipul clinic de boală nu au legătura cu poziţia taxonomică a virusului : virusuri foarte diferite pot determina manifestări care nu pot fi diferenţiate pe baza simptomelor clinice (ex. : virus gripal şi adenovirus) şi, invers, virusuri înrudite pot cauza boli foarte diferite (ex. : virusul oreionului, rujeolei, paragripal).

** Rolul mecanismelor imunitare (ex. : complexe antigen-anticorp) în producerea raşului ca şi altor manifestări patologice se discută în cap. XLVII).

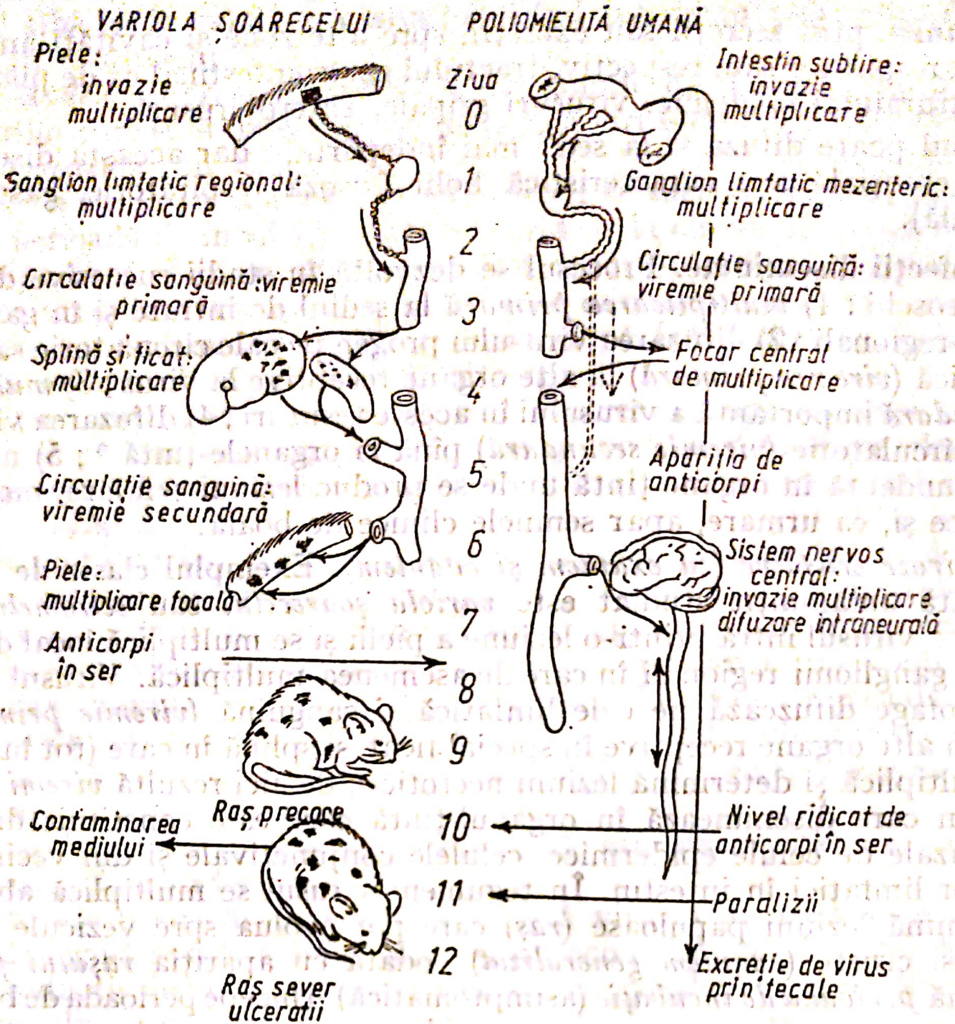

VARIOLA ȘOARECELUI
POLIOMIELITĂ UMANĂ
Piele:
invazie
multiplicare
Ziua
0
Intestin subtire:
invazie
multiplicare
Ganglion limfatic regional:
multiplicare
1
Ganglion limfatic mezenteric:
multiplicare
2
Circulație sanguină: viremie primară
3
Circulație sanguină:
viremie primară
Splină și ficat:
multiplicare
Focar central
de multiplicare
4
5
Apariția de
anticorpi
Circulație sanguină:
viremie secundară
6
Sistem nervos
central:
invazie multiplicare
difuzare intraneurală
Piele:
multiplicare focală
7
Anticorpi
în ser
8
9
Raș precoce
Contaminarea
mediului
10
Nivel ridicat de
anticorpi în ser
11
Paralizii
12
Excreție de virus
prin fecale
Raș sever
ulcerații

Fig. 237: Reprezentare schematică a patogenezei variolei (șoarecelui) și poliomielitei (umane). (după *Fenner, F.*)

(ii) În *poliomielită* (fig. 237) virusul pătrunde pe cale digestivă și multiplică local la sediul sau sediile de implantare inițială (amigdale, plăci Peyer) și în ganglionii limfatici care drenează aceste zone; ca urmare, chiar de la început virusul apare în faringe și fecale. Pe cale sanguină virusul ajunge la alte țesuturi susceptibile cum sînt alți ganglioni limfatici (mezenterici), grăsimea brună * și, secundar, în sistem nervos central (SNC). În SNC virusul difuzează în lungul filetelor nervoase și prin viremie. Dacă în neuronii motori se multiplică intens, virusul determină leziuni necrotice urmate de paralizii.

(iii) Diseminarea *virusurilor neurotrope* în sistemul nervos poate avea loc pe calea nervilor periferici (virus rabic, virus B, posibil poliovirus) sau/și pe cale sanguină circulatorie (poliovirus, Coxsackie, ECHO, CML, oreion, herpes la copil, rubeolic și CMV la făt).

---

* Țesutul gras cafeniu („*brown fat*") sau lipospongiocitar este alcătuit din celule multivacuolare pigmentate și se găsește în axilă, mediastin, perirenal etc., în regiunea interscapulară la șoarece și vampiri. Grăsimea brună este sediu secundar de multiplicare a virusurilor Coxsackie, rabic, poliovirus, reovirus, variolic. Virusurile maturate în acest țesut ar deveni mai neurotrope.

Virusul călătoreşte fie difuzînd ca particule inerte prin spaţiile interaxonice, fie, mai curînd, prin multiplicare din aproape în aproape în celule endoneurale (celule Schwann sau fibroblaşti). Deplasarea în lungul nervilor poate fi urmărită prin localizarea antigenelor virale de exemplu cu seruri imunofluorescente. Calea limfatică neurală este puţin probabilă deoarece limfaticele nu pătrund în SNC.

Calea sanguină rămîne calea cea mai importantă de invazie a SNC şi generalizare a infecţiei naturale cu virusuri neurotrope sau ocazional neuropatogene, indiferent de poarta de intrare : inoculare prin muşcătură de animal (rabie, virus B), de ţînţar sau căpuşă (arbovirusuri), respiratorie (oreion, CML, herpes), enterică (polio, Coxsackie, echo) sau transplacentar (rubeolă, CMV).

În infecţia cu herpesvirus invazia SNC se produce pe cale hematogenă sau a bulbilor olfactivi la adult (meningoencefalită) iar difuzarea în sens invers din ganglionul senzorial (unde determină infecţia persistentă) în teritoriul cutanat se produce pe calea nervilor (herpesul recidivant).

Celulele din SNC (meninge, ependim, gliale, neuroni) nu sînt uniform susceptibile la virusuri (fenomen condiţionat de prezenţa receptorilor şi de capacitatea de a sintetiza virusul) şi răspund la infecţie în moduri foarte variate, de la necroza celulei pînă la disfuncţii fără liză celulară, cu transformare tumorală *.

— Lichidul cefalorahidian (LCR) este important în infecţii virale pentrucă (1) virusurile care pot trece bariera sînge-LCR pot cauza meningite ; (2) pot trece apoi în SNC determinînd encefalite.

În condiţii normale, tot macrofagele controlează bariera sînge-LCR.

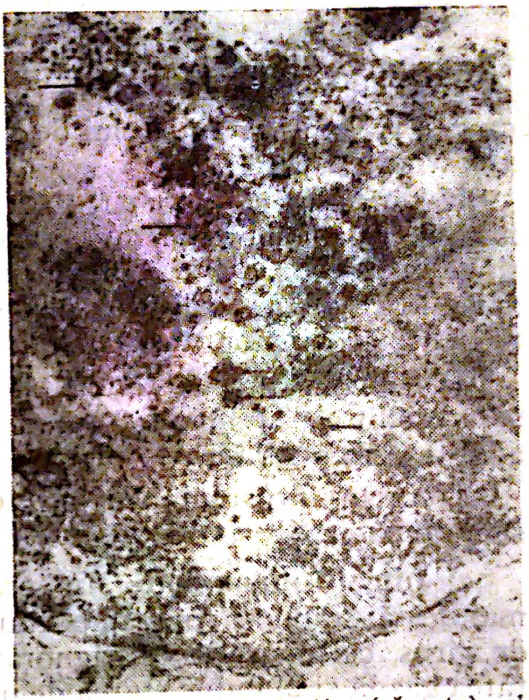


Fig. 238: Virus herpetic (săgeata) şi antigene herpetice în curs de sinteză localizate cu imunoperoxidază în nucleul celulei WI—38. (*Kurstak, E.* şi *Kurstak, C.*)

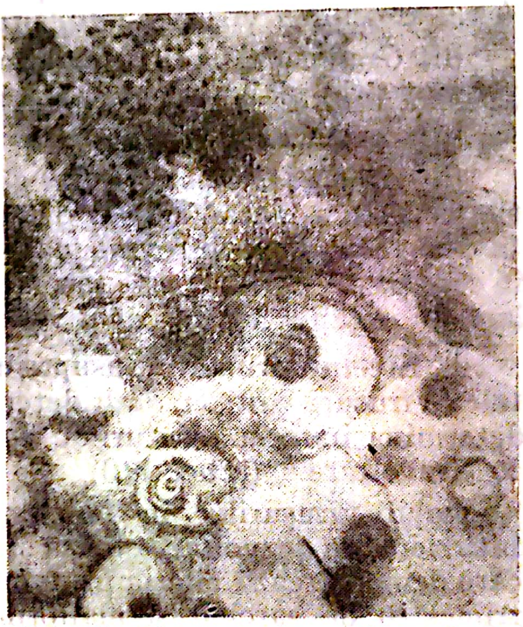


Fig. 239: Electronomicrografie după colorare cu imunoperoxidază a stromei virogene (*VS*) şi a particulei de virus herpetic (Săgeata) în nucleul celulei WI—38. (*Kurstak, E.* şi *Kurstak, C*).

---

* Transformarea celulelor de SNC de către virusuri a fost demonstrată experimental pe animale de laborator rezultînd o varietate de tumori : ependimoame, glioame, sarcoame, neoplasme nediferenţiate ale meningelor şi creierului.

Sînt virusuri care: 1) multiplică în celulele SRE care liniază cavităţile cu LCR (plexuri choroide, ventriculi, spaţii subarachnoide, canalul ependimar, spaţii Virchow-Robin) dar nu infectează şi celule parenchimale ale SNC, ca de exemplu unele tulpini de virus vaccinia, de virus gripal, virusul CML, al ectromeliei.

Meningitele care survin în unele viroze diseminate generalizate (CML, herpes, rujeolă, oreion, arbovirusuri) sînt rezultatul trecerii virusului din sînge în LCR *prin* sau multiplicînd *în* plexurile choroide (principala barieră sînge-LCR). Virusurile Coxsackie şi ECHO sînt frecvent izolate din LCR la pacienţi cu meningită aseptică.

2) Sînt virusuri care multiplică în ambele feluri de celule dînd meningite şi encefalite ca de pildă arbovirusurile, tulpina de virus gripal NWS neuroadaptată la şoarece.

Trecerea virusului prin celule ependimare şi celule care liniază spaţii subarachnoidiene poate avea loc fără semne clinice de meningită.

c) **Infecţii inaparente.** Numeroase infecţii virale productive survin fără manifestări clinice. Au o importanţă epidemiologică deosebită: 1) sînt surse de virus, cel mai adeseori ignorate, pentru difuzarea virusului în colectivitatea gazdă şi 2) induc starea de imunitate. De exemplu, pentru fiecare infecţie acută umană cu poliovirus se produc 100—200 infecţii inaparente decelate serologic sau prin izolarea virusului.

Factorii implicaţi în producerea infecţiilor inaparente sînt:

(i) *Natura virusului.* Tulpinile cu virulenţă moderată sau atenuată (ex.: vaccinuri vii atenuate) produc de regulă infecţii inaparente.

(ii) *Gradul de imunitate* al gazdei, în special capacitatea de a răspunde prompt prin elaborare de anticorpi (răspuns de tip secundar).

(iii) Intervenţia *fenomenului de interferenţă* virală (vezi cap. XLII).

(iv) *Incapacitatea virusului de a ajunge la organul-ţintă,* ca urmare a funcţiei corecte a mecanismelor de apărare în special a ,,barierelor'' sînge-organ în care rolul esenţial revine macrofagelor care liniază sinusoidele (în organele în care patul vascular este format de sinusoide) şi celulelor endoteliale vasculare (în organe în care patul vascular este alcătuit de capilare şi vase mici).

d) **Efectul virusurilor asupra dezvoltării embrionale. Malformaţii congenitale.** Virusuri care la adult determină boli uşoare sau infecţii inaparente pot determina invazia ţesuturilor cu leziuni şi malformaţii severe la embrionul în dezvoltare * (tabel 110).

Rolul virusurilor în patogeneza malformaţiilor congenitale (inclusiv întîrzierea în dezvoltarea fizică şi mintală) a fost recunoscut în 1941 de Gregg care demonstrează relaţia între infecţia cu virus rubeolic a gravidei în primul trimestru de sarcină şi malformaţiile congenitale. Pînă la 2% din fetuşi sînt infectaţi *in utero.*

---

* În timpul din urmă deşi a scăzut considerabil morbiditatea şi mortalitatea din primii ani de viaţă prin alte cauze, malformaţiile congenitale se menţin la o incidenţă crescută sau chiar în creştere. În SUA (1968) se înregistrau anual 500 000 decese fetale (avort spontan) şi 62 000 decese în primele zile asociate cu defecte congenitale; aprox. 15 milioane de persoane supravieţuiesc avînd unul sau mai multe defecte congenitale suficient de severe. Parte însemnată din acestea sînt cauzate de infecţia virală a gravidei.

Tabelul 110

Microorganisme asociate cu defecte congenitale şi infecţii intrauterine la om

	Defecte congenitale	Alte efecte
Virus rubeolic	malformaţii cardiace, cataractă, microftalmie, surditate, microcefalie, întîrziere mintală, defecte imunitare	avort; „sindrom rubeolic expandat" constînd din: hepatosplenomegalie, hepatită, trombocitopenie şi purpură, leziuni ale oaselor lungi, miocardită, pneumonie, encefalită.
Citomegalovirus	microcefalie, întîrziere mintală, surditate, microftalmie, retinopatie	hepatosplenomegalie, icter, calcificări intracerebrale, encefalită, epilepsie (spasmul infantil), convulsii, pneumonie, trombocitopenie, anemie.
Herpesvirus	microcefalie, microftalmie, retinopatie	leziuni cutanate, infecţie diseminată cu sechele neurologice şi/sau chorioretinită
Virus Coxsackie	boală congenitală cardiacă, miocardită	infecţie neonatală, diaree
Virusul oreionului	fibroelastoză endocardică (?)	avort
Virusul encefalomielitei equine de vest		encefalită congenitală
Virusul varicela-zoster		avort, varicelă congenitală
Virus echo		diaree neonatală
Virus polio		avort, poliomielita congenitală
Virus rujeolic		avort, rujeolă congenitală
Virus variolic		avort, variolă congenitală
Virus hepatitic		hepatită congenitală
Treponema pallidum	dinţii lui Hutchinson, nas „în sea", surditate, deformaţii ale unghiilor, hidrocefalie	sifilis congenital, hepatosplenomegalie, artrită, fracturi
Brucella abortus		avort
Listeria monocytogenes		avort, meningoencefalită, granulomatoză diseminată, deces neonatal
Toxoplasma Gondii	hidrocefalie, chorioretinită, microcefalie (rar), întîrziere mintală, microftalmie, nistagmus, strabism, paralizii musculare	toxoplasmoza congenitală

(după *Blattner* şi colab., 1973)

Virusurile exercită *efectul teratogen* trecînd bariera placentară, infectînd embrionul în uter şi determinînd defecte structurale şi funcţionale care persistă la naştere (tabel 111).

(i) *Mecanismul* infecţiei produsului de concepţie (embrion-făt) presupune următoarele evenimente (vezi fig. 240): 1) infecţia aparentă sau inaparentă a gravidei însoţită de *viremie* care aduce virusul în placentă; 2) trecerea virusului *prin placentă* (proces întru totul similar străbaterii barierei sînge-organ)

Tabelul 111

Infecţii inaparente la gravidă şi nou-născut

Microorganism	Procent infecţii inaparente clinic	
	maternă	nou-născut (sub 1 lună vîrstă)
Virus rubeolic	50	65
Citomegalovirus	95	95
Toxoplasma gondii	90	75
Herpes simplex virus	80	5

(după *Nahmias*, 1974)

are loc prin a) infecţia ţesuturilor placentei (ex.: rubeolă, CMV, herpes, varicelă, variolă); la început sînt infectate celulele epiteliului chorionic şi endoteliul vaselor sanguine chorionice iar celulele infectate pot fi liberate în circulaţia embrionului; sau b) trecere fără multiplicare în placentă (ex.: Coxsackie B, poliovirus), permeabilitatea fiind mai accentuată numai în primele 11—12 săptămîni de graviditate; 3) infecţia ţesuturilor embrionare *in utero*, proces facilitat de imaturitatea mecanismelor de apărare.

(ii) *Riscul teratogen* (vezi fig. 240) este legat de infecţia virală în primele 3 luni de graviditate şi este maxim în prima lună legat de procesul de organogeneză (între a 2ª—6ª săptămînă): celulele organelor embrionare aflate în

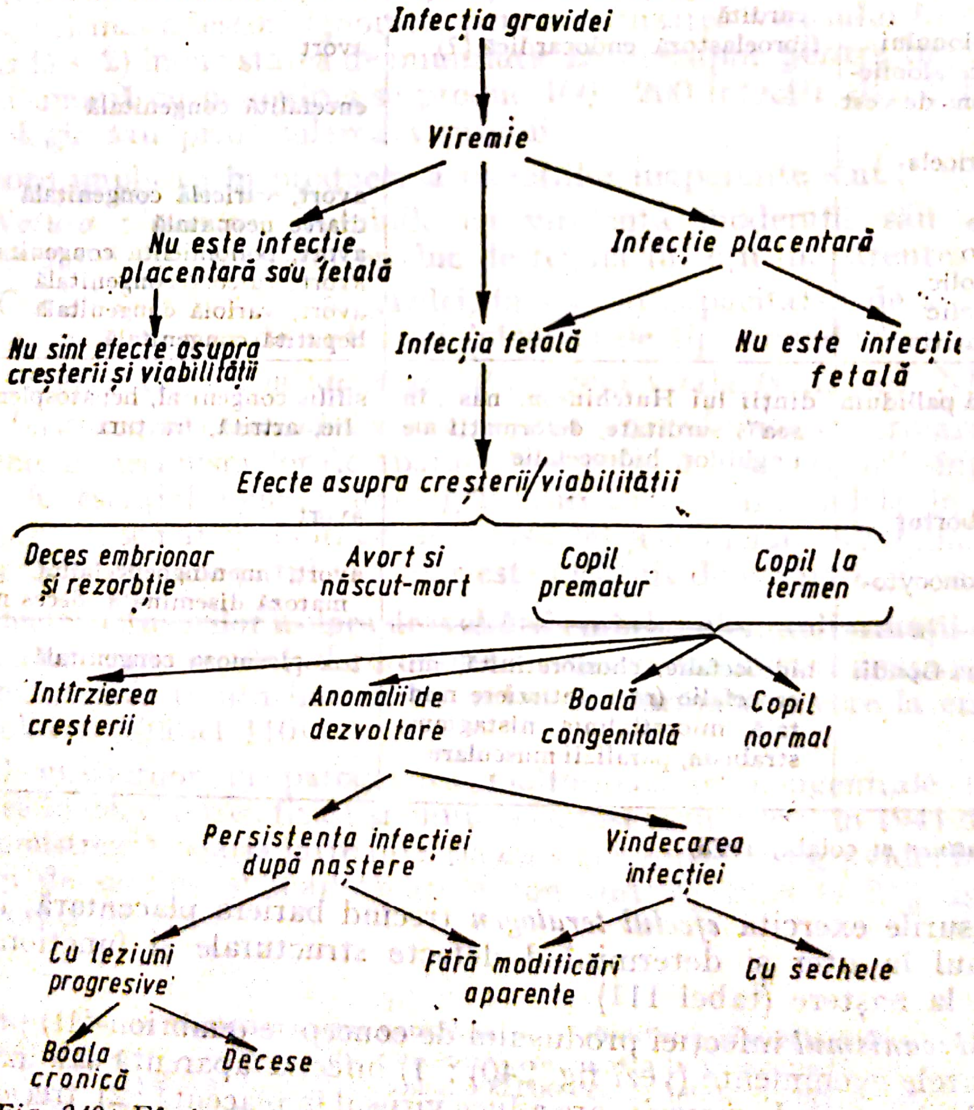

Infecţia gravidei
Viremie
Nu este infecţie placentară sau fetală
Infecţie placentară
Nu sînt efecte asupra creşterii şi viabilităţii
Infecţia fetală
Nu este infecţie fetală
Efecte asupra creşterii/viabilităţii
Deces embrionar şi rezorbţie
Avort şi născut-mort
Copil prematur
Copil la termen
Intîrzierea creşterii
Anomalii de dezvoltare
Boală congenitală
Copil normal
Persistenţa infecţiei după naştere
Vindecarea infecţiei
Cu leziuni progresive
Fără modificări aparente
Cu sechele
Boala cronică
Decese

Fig. 240: Efecte posibile a infecţiei virale a gravidei asupra creşterii şi viabilităţii produsului de concepţie (embrion-făt-copil).

primele stadii de diferenţiere se află în plină activitate mitotică; virusul induce malformaţii în acele teritorii care au fost surprinse în activitate mitotică accentuată (tabel 112).

Relativa benignitate a infecţiei după luna 3—4 de sarcină poate fi rezultatul începerii competenţei imunologice a fătului, modificării barierei placentare şi maturării celulelor fetale care devin mai rezistente.

(iii) *Efectul teratogen* ţine de a) leziuni celulare care tulbură participarea la procesul normal de diferenţiere şi de b) alterări cromozomale şi mitotice ca urmare a efectului mutagen al virusului.

Tabelul 112

Incidenţa anomaliilor congenitale determinate de virusul rubeolic în raport cu vîrsta sarcinii în momentul infecţiei

Luna	Număr cazuri de anomalii congenitale	Incidenţa la 100 naşteri
1	89	17.9
2	149	30.6
3	105	21.3
4	44	8.3
5	7	<1
6	8	<1
7	7	<1
8	3	<1
9	1	<1

(după *Swan*, C., 1949)

Leziunile celulare induse de virusul rubeolic în organe embrionare au ca rezultat a) *încetinirea* ratei de creştere, diminuarea însemnată a potenţialului de dedublare a celulelor infectate, b) producerea în organe a unor clone de celule infectate vertical persistent cu virus, c) tulburarea procesului normal de diferenţiere.

În organele cu malformaţii congenitale există un număr mai mic de celule decît cel normal.

(iv) *Expresia anatomo-clinică* (vezi tabel 110) este extrem de variabilă şi depinde în special de a) stadiul de dezvoltare al embrionului în momentul infecţiei şi b) caracterele virusului sau tulpinii de virus infectant, acele cu virulenţă moderată fiind cu potenţial malformativ mai ridicat.

Defectele congenitale sînt a) *imediate* (prezente la naştere şi nu pot fi corectate prin procese normale de maturare (ca de ex.: „sindromul rubeolic clasic" manifestat prin cardiopatie congenitală, cataractă, surditate) sau b) *tardive*, manifestate în perioada postnatală, atunci cînd organele atinse se exprimă funcţional (mers, vorbire, citit etc.). Pot varia ca gravitate de la defecte subtile pînă la monstruozităţi.

Virusurile implicate cu certitudine în malformaţii congenitale la om sînt virusul rubeolic, citomegalovirus şi, rar, virusul herpesului simplu. Malformaţiile întîlnite, singure sau în asociere, pot fi: defecte cardiace, cataractă, surditate, microencefalie, întîrziere în dezvoltarea fizică şi mintală şi mai rar microftalmie, chorioretinită, calcificări intracerebrale, sindactilie, hipospadias, anomalii dentare şi maxilare etc. Un rol important în determinismul malformaţiilor congenitale revine sifilisului şi infecţiei cu toxoplasma.

Alte virusuri sînt suspectate ca agenţi teratogeni ca de pildă virusul oreionului (în fibroelastoza endocardică, hidrocefalie), gripal (anencefalie), Coxsackie B (boală cardiacă congenitală).

În Anglia (1969), care înregistrează $4,6^0/_{00}$ întîrziaţi mintal necesitînd asistenţă în grupa de vîrste 7—14 ani, virusul citomegalic ar fi responsabil de 10% din stările de întîrziere mintală și virusul rubeolic împreună cu toxoplasma de încă 2—3%. Serologic 6% din gravide sînt infectate cu CMV, 2—3% excretă virus în cursul sarcinii sau la termen și 0,5—2% din nou născuți excretă virus. Boala citomegalică se întîlnește în 1 :3000 nașteri. Pe glob, procentele de infecție cu CMV variază în limite foarte largi (10—15% pînă la 75—100%) în raport de condiții socio-economice.

Infecțiile cu virus rubeolic în primul trimestru de sarcină variază de la cca 1‰ în anii neepidemici la 22‰ și peste în anii epidemici.

Procente variabile de copii infectați intrauterin cu CMV, virus rubeolic sau toxoplasma sînt aparent normali la naștere și dezvoltă simptome de chorioretinită și de alte leziuni cerebrale după săptămîni, luni sau chiar ani de la naștere.

În SUA (1975), un studiu pe 58.000 sarcini relevă următoarele procente de infecții virale ale gravidei : 2,5% gripă, 1,5% herpes, 0,3% rubeolă, 1% oreion, 0,6% varicelă, 0,5% hepatită, 0,2% rujeolă, 0,1% mononucleoză infecțioasă și 0,1% papiloame.

În natură, la multiple specii animale, se întîlnesc defecte congenitale și infecții intrauterine cauzate prin mecanisme similare, ca de exemplu în pesta porcină (hog cholera = togavirus), infecția cu virus „blue tongue" (orbivirus) la oaie, virusul Kilham al șobolanului (parvovirus) etc.

Experimental, malformații sînt relativ ușor induse prin infecția în cursul dezvoltării embrionare cu virus gripal, oreionului, Newcastle la găină, cu virusul pestei la porcine etc. Infecția cu virus Kilham la hamster induce malformații ale capului asemănătoare cu acelea din mongolism (sindromul Down).

(v) *Infecția congenitală* (cîștigată înainte de sau la naștere) cu virus rubeolic, CMV și, probabil, herpetic, are toate caracterele infecției cronice persistente. Nou-născuții cu „sindrom rubeolic expandat" elimină timp îndelungat virus (pînă la vîrsta de 12—18 luni) prin urină, fecale, secreții faringiene ; virusul este prezent în LCR, sînge, măduva osoasă, lichid din urechea mijlocie. Infecția virală interesează creier, ficat, splină, pulmon, rinichi, tiroidă, timus, cord, canalul arterio-venos. (La 3 ani de la infecția congenitală, din cristalin cu cataractă a fost izolat virus rubeolic). Copiii cu sindrom rubeolic expandat, în afară de anomalii prezente în sindromul rubeolic clasic, prezintă în plus hepatosplenomegalie, trombocitopenie, purpură, pneumonie, miocardită, leziuni osoase, au dimensiuni mici și nu cresc.

(vi) *Prevenirea* malformațiilor congenitale de etiologie virală constă în vaccinare profilactică.

În grupa de adulți tineri, 15—20% *nu* au anticorpi antirubeolici deși parte din aceștia au făcut rubeolă în copilărie. În cursul epidemiei de rubeolă mulți adulți fac seroconversie (infecții sau reinfecții inaparente). Malformații congenitale se întîlnesc în cca 14% din cazurile de infecții clinice și în cca 40% din infecțiile subclinice ori inaparente cu virus rubeolic ale gravidei. Rezultă că infecțiile și reinfecțiile subclinice sînt mai teratogene.

e) **Infecții virale la nou-născut și sugar (Infecții perinatale).** Infecția neonatală (manifestată în primele zile ale vieții extrauterine) interesează atît copii eutrofici dar mai ales distrofici și prematuri ; are de regulă un curs sever, condiționat de : a) surse de virus în imediata vecinătate : infecție virală maternă sau a persoanelor de îngrijire, din anturaj ; b) discrepanțe între imunitatea pasivă transmisă transplacentar și virusul agresor (lipsa de protecție pasivă prin anticorpi materni) ; c) aglomerare (saloane din maternități, prematuri, creșe) ; d) deficiențe în igienă și sanitație etc. ; e) malnutriție proteino-calorică ; f) imaturitatea sistemelor de apărare antiinfecțioasă (tabel 113 și 114).

Virusurile implicate cel mai frecvent în infecții neonatale sînt :

(i) *Virusuri Coxsackie* (în special B) determină o boală severă, adeseori fatală, caracterizată de miocardită, hepatită și meningoencefalită. Se descriu izbucniri în maternități concomitent cu epidemia de pleurodinie sau meningoencefalite care evoluează la adulți în populație.

Tabelul 113

Incidența infecțiilor materne, fetale și neonatale

Microorganism	*Materne* (la 1000 sarcini)	*Fetale** (la 1000 născuți vii)	*Neonatale*** (la 1000 născuți vii)
Citomegalovirus			
— în cursul sarcinii	16—130	5—15	—
— la delivrare	110—280		50—100
Rubeola			
— epidemic	20—40	4—30	0
— interepidemic	0.1—1.0	0.2—0.5	0
Toxoplasma gondii	1.5—6.4	1.3—7	0
Herpes simplex	1—10	rar	0.1—0.5
Treponema pallidum	0.2	0.1	0
Streptococ grup B	50—250		1—2
Escherichia coli	comună		1—2

* Infecții cîștigate *in utero*
** Infecții cîștigate în cursul delivrării sau curînd după naștere.
(modificat după *Nahmias*, 1974).

Tabelul 114

Relații între tipul de placentă și caracterul transferului materno-fetal a anticorpilor la diferite specii

Specia	Numărul de membrane placentare	Importanța relativă* a căii de transfer	
		placentar	colostral
cal	6	0	+++
oaie, vacă	5	0	+++
cîine, pisică	5	+	++
șobolan, șoarece	4	+	++
iepure, cobai	3	+++	+
OM, maimuță	3	+++	0

* Indicată arbitrar între 0 (nesemnificativă) pînă la +++ (foarte importantă).
(după *Remington* și *Klein*, 1976)

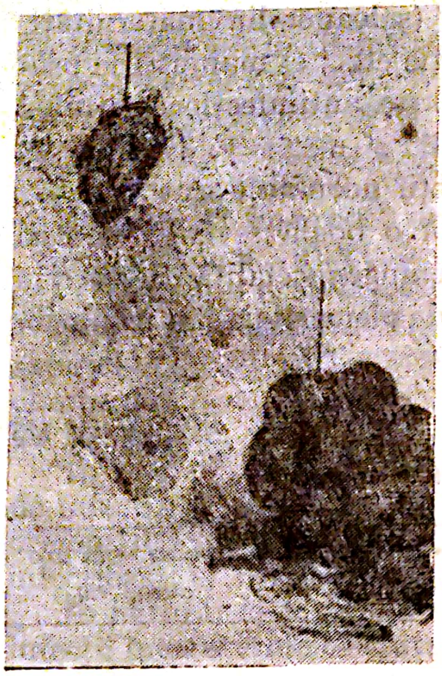


Fig. 241: Leziuni morfologice și antigene virale colorate cu imunoperoxidază în celule cervicale raclate de la o bolnavă cu infecție herpesvirus tip 2. (*Morisset, R.* și colab.)

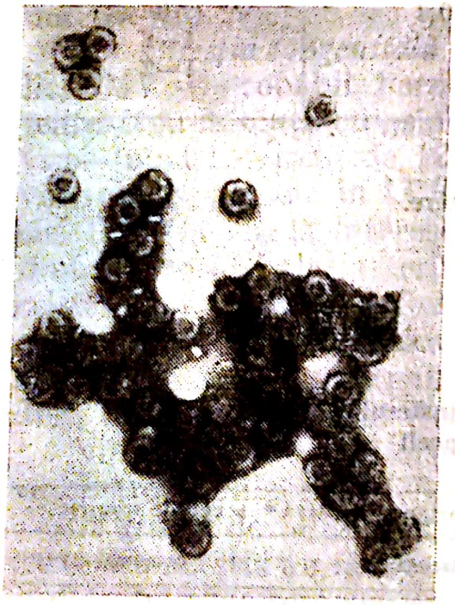


Fig. 242: Rotavirus în scaun (gastroenterită infantilă) evidențiat prin imunoelectronomicroscopie (× 120 000). (*Gardner, P.S.*)

(ii) *Citomegalovirus* și *herpesvirus tip 2* (genital) dau infecții grave la nou-născut consecutiv infecției uterine și vaginale. Se manifestă ca o infecție diseminată cu hepatosplenomegalie, purpură, anemie eritroblastică sau hemolitică, icter și prinderea sistemului nervos central (leziuni extensive, multifocale, necrozante, hemoragice) urmate de deces (boală viscerală fulminantă) sau de vindecare cu sechele sau uneori fără sechele aparente. Determină infecții epidemice în saloane și instituții de copii.

(iii) *Herpesvirus tip 1* (oral). Virusul difuzează în colectivitate prin obiecte (lingurițe, tetine, termometre) contaminate cu saliva infectantă determinînd izbucniri „de salon".

(iv) *Virusurile hepatitice tip A* se transmit prin fecale și virusul *tip B* prin transfuzii de sînge, plasmă și derivate contaminate, prin utilizare de fibrinogen contaminat și prin utilizare de seringi, ace sau instrumente medicale pe care se află urme de sînge contaminat (0,000025 ml — adică 25 nanolitri — de sînge contaminat poate transmite infecția).

Virusul *hepatitei B* se poate transmite transplacentar determinînd la nou-născut „starea de purtător de virus" și uneori manifestări hepatice de gravitate variabilă de la necroză hepatocelulară acută pînă la hepatita cu celule gigante urmată de fibroza ficatului.

Infecția cu virus hepatitic în ultimul trimestru de sarcină a fost găsită asociată cu creșterea incidenței de născuți-morți și a mortalității perinatale.

Studii recente relevă rolul important a noi familii de virusuri în infecții acute epidemice la sugar și copilul mic:

(v) *Coronavirus uman* (gastroenterite transmisibile);

(vi) *Reovirus tip 2 și 3* (gastroenterită acută severă la copii sub 6 ani);

(vii) *Parvovirus* (agenți ai gastroenteritei acute nebacteriene, agentul Norwalk).

f) **Infecție și nutriție.** Între infecție și starea de nutriție sînt relații de tip sinergic, de interdependență și condiționare reciprocă.

Letalitatea (numărul de decese de o anumită cauză raportat la numărul total de decese) prin rujeolă este de 200 ori mai mare în țările subdezvoltate decît în țări industrializate, cauza fiind malnutriția proteino-calorică. Majoritatea copiilor din țările în curs de dezvoltare suferă de subnutriție și malnutriție într-o anume perioadă din primii 5 ani de viață.

După boli infecțioase se dezvoltă mai multe cazuri de Kwashiorkor * (sau malnutriția proteino-calorică, distrofia de gr. II), în special după gastroenterite acute (virale sau bacteriene). Cauza marasmului nutrițional : infecțiile induc pierdere de azot și diareea reduce absorbția intestinală.

(i) *Relații infecție → nutriție.* Pierderile severe de azot din cursul infecțiilor acute țin de a) activitatea crescută a corticalei suprarenale ceea ce determină mobilizarea aminoacizilor din țesuturi ; b) reducerea incorporărilor prin lezarea mucoasei intestinale, anorexie, diaree, vomitări, dietă lichidă.

(ii) *Relații nutriție → infecție.* Invers, malnutriția proteino-calorică intensifică gravitatea infecției prin a) depresia imunității umorale și celulare, b) reducerea activității leucocitare, c) producerea de defecte ale tegumentelor și mucoaselor, d) fragilitate capilară etc.

(iii) *Rezolvarea problemei* constă în prevenirea și controlul infecțiilor și, simultan, ameliorarea alimentației populației în general și copiilor în special. Igienizarea, profilaxia și asistența medicală nu sînt consum de fonduri, ci investițiile cele mai productive.

2. INFECȚII VIRALE PERSISTENTE (SAU LATENTE)

Infecția persistentă sau latentă este cauzată de virusuri aparținînd la numeroase familii sau grupe (tabel 115) și se caracterizează prin stabilirea unui echilibru între gazdă și parazit evoluînd : a) cel mai adesea fără expresie clinică (ex. : CML la șoarece infectat congenital, SV40 la maimuță) ; b) cu manifestări clinice acute intermitente (ex. : herpes recidivant) ; c) ca o boală cronică (ex. : hepatita cronică, panencefalita sclerozantă subacută, leucoencefalopatia multifocală progresivă și altele) sau d) prin inducerea de neoplazii (ex. : oncornavirusuri).

Mecanismele care stau la baza producerii infecției virale persistente, starea virusului și interacțiunea cu celula gazdă precum și metodele de decelare (sau demascare) a virusului sau acidului nucleic viral sînt expuse pe larg în cap. XL, XLIV și L.

— Semnificația biologică a infecțiilor latente. Infecția latentă constituie o modalitate de supraviețuire atît a virusului cît și a celulei gazdă (endosimbioză) care modifică dramatic atît patogeneza infecției virale acute cît și incidența infecției virale în populația gazdă.

Reactivarea infecției latente (reversia la ciclul productiv) ca urmare a intervenției unor factori favorizanți (endocrini, de mediu extern etc.) poate determina aspectul clinic de *boală acută recurențială* (ex. : herpesul

---

* *Kwashiorkor* (nume local în Ghana) : o boală a sugarilor și copilului mic, mai ales la tropice și subtropice, survenind curînd după înțărcare, datorită în primul rînd deficitului calitativ și cantitativ de proteine în dietă ; caracterizată de edeme, modificări ale pielii, întîrziere în creștere, ficat gras, apatie severă și slăbiciune. *Kwashiorkor marasmic* = pe lîngă deficit proteic se află și deficit caloric.

Tabelul 115

Virusuri cauzind infecţii persistente (latente) la om sau animale

Grup taxonomic	Denumirea virusului	Gazda	Boala cronică
RNA :			
Picornavirus	Poliovirus	şoarece	leucomielită
Togavirus B	KFD	şoarece	encefalomielită
	RSSE	*om*	encefalita parţială continuă (Kojevnikov)
	Rubeolic	*om*	malformaţii congenitale
Paramyxovirus	Rujeolic	şoarece	panencefalită
	SSPE	*om*	panencefalită sclerozantă subacută
Oncornavirus tip C	MLV	şoarece	poliomielită ; leucemie
,, tip B	„Factor lapte" (Bittner)	şoarece	adenocarcinom mamar
Lentivirus			
— agenţii encefalopatiilor spongiforme	Kuru/agentul Jacob-Creutzfeldt	*om*	sindrom Kuru/Jacob-Creutzfeldt
	Scrapie	oaie	sindrom scrapie (capia)
— Visna/Maedi	Visna	oaie	panencefalită
	Maedi	oaie	pneumonie interstiţială progresivă
Retroviridae (neoncogen)	Anemia infecţioasă	cal	anemie, hepatită, glomerulită, limfoproliferări
Reovirus	Reovirus 3	şoarece	hepatită
Arenavirus	LCM	şoarece	glomerulonefrită
Pestivirus **	LDV	şoarece	?
DNA :			
Parvovirus	Virusul bolii Aleutine	vizon	plasmocitom (encefalopatie)
Papovavirus	Virus JC	*om*	leucoencefalopatia multifocală progresivă
Adenovirus	Adenovirus tip 32	*om*	encefalită subacută (un caz)
?	HBV	*om*	hepatită cronică persistentă/agresivă
Herpesvirus	Herpes simplex	*om*	herpes recurenţial ; encefalită
Poxvirus	Vaccinia	şoarece	?

KFD = Boala din pădurea Kyassanur
RSSE = encefalita rusă de primăvară-vară
SSPE = panencefalita sclerozantă subacută
MLV = virusul leucemiei murine
LCM = choriomeningita limfocitară
** Gen în familia Togaviridae
LDV = virusul dehidrogenazei lactice
HBV = virusul hepatitei tip B

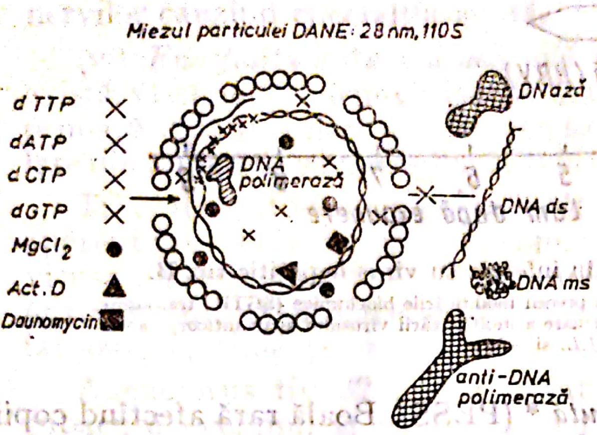

Miezul particulei DANE: 28 nm, 110S
dTTP
dATP
dCTP
dGTP
MgCl2
Act. D
Daunomycin
DNA polimerază
DNază
DNA ds
DNA ms
anti-DNA polimerază

Fig. 244: Structura miezului particulei Dane avînd pe suprafață antigen HBc. (*Robinson, W.S.*)

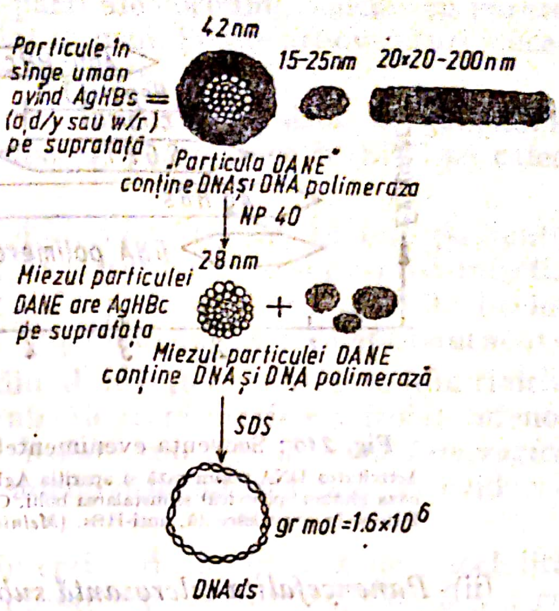

Particule în sînge uman avînd AgHBs = (a,d/y sau w/r) pe suprafață
42 nm
15-25nm
20x20-200nm
Particula DANE conține DNA și DNA polimeraza
NP 40
28nm
Miezul particulei DANE are AgHBc pe suprafața
Miezul particulei DANE conține DNA și DNA polimeraza
SDS
gr mol = 1.6x10⁶
DNA ds

Fig. 243: Reprezentare schematică a componentei structurale a virusului hepatitic tip B disociabile prin metode chimice și fizice. (*Robinson, W.S.*)

recidivant) și, în același timp, *o sursă de virus* care poate *iniția o epidemie* între contacții susceptibili. Astfel, de ex. infecția latentă cu virusul varicelei (herpesvirus uman 3) persistentă după boala acută, poate fi reactivată determinînd o manifestare clinică cu totul diferită, zona sau herpesul zoster, iar bolnavul poate fi sursa unei epidemii de varicelă.

Cele mai importante infecții virale persistente asociate cu boală cronică sînt:

(i) *Hepatita cronică cu virus B*. Infecțiile primare acute cu virus hepatitic tip B la om sînt urmate într-un procent cel puțin de 10% de infecție persistentă, exprimată uneori prin concentrații mari de antigen HBs (cca 200 μg/ml) în ser, ocazional cu prezență de particule DANE (virus) în sînge și DNA polimerază virală. Infecția persistentă, asociată sau nu cu boală cronică, se stabilește mai frecvent după infecții primare acute ușoare sau subclinice și după infecții congenitale sau neonatale decît după infecțiile primare acute severe.

Experimental, persistența virală se stabilește mai frecvent după inocularea de doze infectante reduse de virus decît după dozele mari.

Stările de imunosupresie (inclusiv terapia cu corticosteroizi în faza acută a infecției primare) condiționează instituirea unei infecții persistente manifestată prin portaj cronic de antigen HBs sau hepatită cronică.

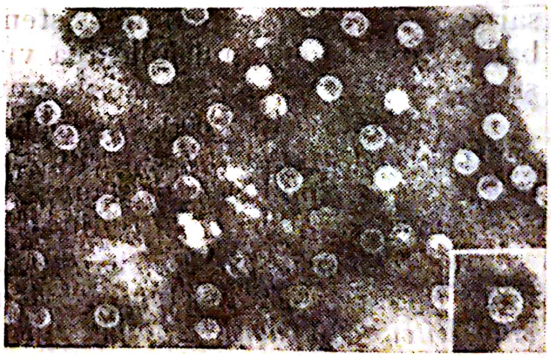


Fig. 245: Particule de antigen HBc purificat obținute după tratarea particulelor Dane cu protează și dezoxicholat.

Au diametrul de 27 nm, ocazional 20 nm. (× 230 000). În chenar, o particulă mărită × 350 000 permite a se vedea capsomere. (*Almeida, J.D.* și colab).

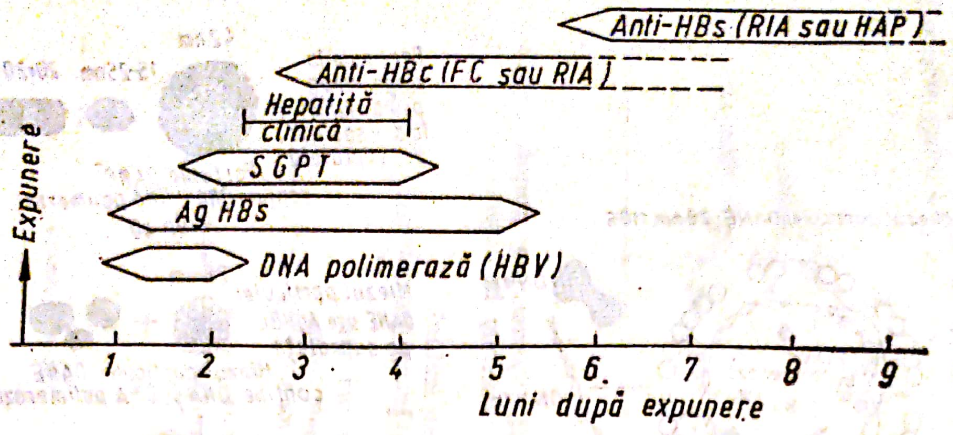


Fig. 246 : Secvența evenimentelor în infecția cu virus hepatitic tip B.

Activitatea DNA polimerază și apariția AgHBs preced modificările biochimice (SGTP : transaminaza glutamo-piruvică) și instalarea bolii. Ca urmare a multiplicării virusului apar anticorpi anti-HBc și în convalescență, anti-HBs. (*Melnick, J.L.* și colab.)

(ii) *Panencefalita sclerozantă subacută* * (PESS). Boală rară afectînd copii de vîrstă școlară, caracterizată clinic de mișcări involuntare, convulsii, mioclonii și modificări mintale severe (demență). Evoluează progresiv și se termină prin deces în interval de cca 12 luni. În nucleul neuronilor și celulelor gliale se află nucleocapside tubulare de virus rujeolic ; în LCR și serul sanguin sînt titruri mari de anticorpi fixatori de complement pentru virus rujeolic și, prin cocultivare, din creier de bolnav s-a izolat *virus rujeolic*.

De un interes deosebit este descoperirea recentă a unei *panencefalite progresive* la adolescenți care au avut *rubeolă* congenitală. Este asemănătoare PESS însă în LCR sînt titruri mari de anticorpi pentru virus rubeolic și, prin cocultivare, de la unul din bolnavi s-a izolat virus rubeolic din creier.

Jigodia cîinelui este o boală cauzată de un paramyxovirus, antigenic înrudit cu virusul rujeolic. Unele animale, consecutiv bolii acute, fac o infecție persistentă întru totul asemănătoare PESS la om.

(iii) *Leucoencefalopatia multifocală progresivă* (LMP). Boală rară la adult caracterizată de demielinizări în emisferele cerebrale și cerebel cu tulburări de neuron motor central (vorbire, văz) și ataxie, cu sfîrșit letal la cca 12 luni de la debut.

Se asociază deseori cu stări imunosupresive prin boli (leucemie, limfom, sarcoidoză, lupus eritematos sistemic etc.) sau induse terapeutic care, probabil, favorizează multiplicarea virusului în celulele gliale. Au fost descrise și cazuri de LMP *fără* stare de imunosupresie.

În nucleul astrocitelor și oligodendrocitelor sînt incluzii caracteristice pentru *papovavirus*, bolnavii au anticorpi specifici, din creier de bolnav prin inoculare pe celule gliale fetale umane s-a izolat agentul etiologic : *papovavirusul JC*.

(iv) *Epilepsia lui Kojevnikov* sau epilepsia parțială continuă, se instalează rareori la cîteva luni după infecția acută febrilă viremică cu *virusul encefalitei de căpușă* (Arbovirus grup B, Flavivirus) sub forma de contracturi clonice localizate în una sau mai multe părţi ale corpului, asociat cu pareze şi rigiditate. Din creer de bolnav s-a izolat virusul. Şi alte arbovirusuri (encefalita japoneză B) ar da infecţii focale persistente.

---

* *Sinonime* : leucoencefalită sclerozantă subacută, encefalită subacută cu incluzii, panencefalită nodulară, encefalită hiperkinetică progresivă subacută, encefalită psihotică subacută, encefalită rujeoloasă lentă, boala lui Dawson, panencefalita nodulară Pette-Döring, scleroza difuză Van Bogaert etc. ...

(v) *Encefalita cu herpesvirus.* Virusul herpetic persistă în ganglionii trigeminal, sacral, spinali, de unde, probabil, poate trece în SNC pe calea nervilor cauzînd encefalită acută.

(vi) *Encefalita subacută asociată cu Adenovirus tip 32.* În infecţia acută există viremie şi adenovirusurile stabilesc infecţii persistente după infecţia primară (pot fi izolate din faringe sau fecale, prin preparare de culturi celulare din amigdale sau ganglioni limfatici, după luni de zile de la episodul acut).

Tractul genito-urinar poate fi alt sediu al infecţiei persistente (din rinichi aparent normal şi din urină la copii cu infecţie respiratorie s-a izolat adenovirus; adenovirus tip 11 şi 21 au fost izolate din *cistită acută hemoragică la copil*; infecţii urinare persistente cu adenovirus au fost puse în evidenţă la şoarece, cîine şi cimpanzeu).

Adenovirus tip 32 a fost izolat din creier de la un caz de encefalită subacută evoluînd la un bolnav cu limfosarcom, tratat timp de 5 ani cu radiaţii şi imuno-supresive. În nucleul neuronilor erau prezente incluzii caracteristice formate din adenovirus.

— Posibil, tot de etiologie virală sînt şi scleroza multiplă şi encefalomielita de Vilyuisk.

(i) *Scleroza multiplă* (SM) sau scleroza în plăci, delimitată de Charcot în 1877, este probabil cea mai importantă boală cronică a SNC, cu etiologie încă neprecizată, întîlnită de predilecţie în zonele cu climă temperată. Se caracterizează prin demielinizare a substanţei albe în primul rînd a căilor piramidale, sensoriale şi cerebeloase; evoluează cu remisiuni şi recăderi. Dacă este de cauză infecţioasă, infecţia survine probabil înainte de 15 ani vîrstă şi incubaţia durează cîţiva ani.

Argumentele serologice sînt în favoarea rolului cauzal al *virusului rujeolic*: a) prezenţa de titruri mari de anticorpi serici; b) 75% din bolnavi au anticorpi antirujeolici în LCR.

Datele morfologice şi virologice pledează pentru un *paramyxovirus*: a) prezenţa de nucleocapside paramyxovirus în nucleu şi citoplasma celulelor mononucleare din leziuni perivenoase precoce în creier de bolnav cu SM; b) prin cocultivare (celule fuzionate) de substanţă albă cerebrală de bolnav se evidenţiază nucleocapside paramyxovirus şi se izolează paramyxovirus tip 1; c) virusul izolat produce encefalită urmată de leucomalacie după inoculare intracerebrală la şoarece; d) în citoplasma astrocitelor din fragment bioptic de cortex cerebral de bolnav sînt văzute formaţiuni tubulare.

Datele nu sînt confirmate de alţi cercetători pe alte grupe de bolnavi cu SM.

(ii) *Encefalomielita de Vilyuisk*, semnalată la populaţia Yacută din Siberia pe valea rîului Vilyuisk (290 cazuri în intervalul 1952—1965). Poate avea o evoluţie acută sau cronică. Are debut „gripal" urmat de tulburări de nervi cranieni, rigiditate extrapiramidală, tremurături, stare letargică. Forma cronică constă din spasticitate, tulburări de nervi cranieni şi extrapiramidale, modificări de comportament, demenţă, stare care poate persista şi peste 20 ani. 5% fac scleroză laterală amiotrofică clasică. Histopatologic sînt leziuni de panencefalită cu inflamație și pierdere de neuroni, mai accentuate în cortexul cerebral și ganglioni bazali.

Din sînge a fost izolat un virus înrudit cu *virusul Mengo* (specia *Cardiovirus*: EMC, Col. SK, Mengo a genului *Enterovirus* din familia *Picornaviridae*) însă care este considerat agent de contaminare.

3. INFECȚII VIRALE LENTE

(„slow infections")

Cuprind un număr de boli ale omului și animalelor (tabel 116) cauzate de virusuri cu totul particulare grupate în subfamilia *Lentivirinae* (*lentus* = încet), denumit și grupul Maedi/visna, în familia *Retroviridae*.

Morfologic și chimic se aseamănă celorlalți membri ai familiei Retroviridae (posedă reverstranscriptază) însă, spre deosebire de oncornavirusuri, *nu induc tumori*. Nucleocapsida se structurează în vecinătatea imediată a învelișului viral care derivă din membrana citoplasmică în timpul înmuguririi și este lipsită de o a doua membrană virală internă. În culturi celulare formează sinciții prin fuziunea celulelor.

Virusul inactivat cu UV încă este capabil să altereze și fuzioneze celulele susceptibile. Inocularea intracerebrală la maimuță (diferite specii) cauzează un sindrom asemănător bolii naturale, după o incubație variind între cîteva luni pînă la 6 ani.

Conceptul de *„slow infections"*, elaborat de Sigurdsson în 1954 pentru „bolile cronice" ale oilor din Islanda (boala Scrapie sau panleucoencefalita dată de virusul *visna* și pneumonia interstițială progresivă cu virus *maedi* sau Zwoegerziekte), a fost aplicat în medicina umană de Hadlow în 1959 care relevă asemănările izbitoare, în ceea ce privește *caracterele agenților etiologici*, epidemiologia, clinica și patogeneza, între boala Scrapie a oilor și boala Kuru la populația Fore din Noua Guinee. Noțiunea neclară de „infecții lente" definită inițial pe baza criteriilor anatomo-clinice este astăzi, grație sistematizării taxonomice a subfamiliei *Lentivirinae*, o noțiune precisă: este vorba de entități clinice caracterizate de *encefalopatie spongiformă subacută cu etiologie virală bine stabilită*.

Tabelul 116

Infecții virale lente

(*„slow infections"*)

Familie	Virus	Gazdă	Boală
Retroviridae: Subfamilia Lentivirinae	Visna	oaie	panencefalită
	maedi*	oaie	pneumonie progresivă
	scrapie	oaie	Scrapie ** (tramblanta oilor)
	Kuru	om	Kuru
	Creutzfeldt — Jacob	om	Creutzfeldt-Jacob

* *maedi* = dispnee

** *to scrapie* = a scărpina

(i) *Kuru* * este o boală subacută degenerativă a SNC, familială, caracterizată de ataxie cerebeloasă și tremurături, degenerarea neurologică progresînd lent pînă la deces care survine la 3—18 luni de la debut. 50% din decesele în populaţia Fore au fost cauzate de Kuru în perioada practicării canibalismului. ritual.

---

* În limba populației Fore (cca 40 000 locuitori în zona muntoasă din Noua Guinee) înseamnă „tremură de frică".

Inocularea intracerebrală la cimpanzeu cu creier de bolnav induce, după o incubaţie de 18—38 luni, o boală întru totul asemănătoare bolii umane, terminată prin deces la 4—11 luni de la debut. Treceri intracerebrale în serie de la animal la animal scurtează incubaţia la mai puţin de un an şi, în continuare, virusul poate fi adaptat la numeroase alte specii de maimuţe.

Histopatologic, leziunile constau în degenerescenţa spongiformă şi glioză (prin balonizare şi vacuolizare a neuronilor şi ocazional a astrocitelor) în substanţa cenuşie din cortexul cerebral, ganglioni bazali, cerebel, trunchi cerebral, măduva spinării. În regiunile cel mai afectate se vede un infiltrat perivascular discret cu limfocite.

Virusul este foarte stabil la—70°C, termostabil (în suspensia de creier 10% rezistă 30 minute la 85°C). Într-un gram de creier de bolnav sînt prezente 10^7 doze infectante pentru cimpanzeu. Încă nu a putut fi izolat pe culturi celulare sau văzut la microscopul electronic. Nu au fost puşi în evidenţă anticorpi faţă de agentul infectant.

(ii) *Boala Creutzfeldt-Jacob* * (*BCJ*) sau *„demenţa virală transmisibilă”* (1975).

Boală relativ rară (posibil datorită sinonimelor) întîlnită la persoane de vîrstă 40—60 ani, cu evoluţie lentă progresivă caracterizată de incoordinaţie, mioclonii, vorbire monosilabică, nistagmus, urmate de comă şi deces. Histopatologic se remarcă arii diseminate de degenerare spongiformă a neuronilor cu neuronofagie şi proliferarea astrocitelor.

Boala se transmite la cimpanzeu după o incubaţie de 13 luni. Studiul a 47 cazuri recente în SUA relevă o durată medie a bolii de cca 12 luni şi posibilitatea de transmitere de la bolnav la sănătos prin transplant de cornee (1974) sau de alte organe, implantare de electrozi pentru EEG etc., posibilităţi confirmate experimental pe maimuţă **.

Agenţii etiologici ai BCJ şi Kuru sînt atipici şi neobişnuiţi : nu au putut fi izolaţi şi purificaţi, ***nu determină apariţia de anticorpi decelabili.*** Asemănările frapante cu agenţii visna şi maedi justifică apartenenţa lor la subfamilia Lentivirinae.

Astfel, boala *Scrapie* *** sau encefalomielita enzootică a oilor şi caprelor, boala *Visna*, o panleucoencefalită a oilor, boala *Maedi*, o pneumonie progresivă a oilor, şi, posibil, ***borna***, encefalomielita subacută progresivă a calului, sînt practic identice clinic și histopatologic cu bolile Kuru și Creutzfeldt-Jacob, fiind considerate, împreună, drept *„encefalopatii virale subacute spongiforme"* (Gibbs și Gajdusek, 1972) cu leziuni predominînd în *substanța cenușie* și ai căror unici reprezentanți izolați pînă în prezent sînt virusurile din grupa visna/maedi.

---

* *Sinonime* : encefalomielopatia diseminată, pseudoscleroza spastică, degenerescenţa cortico-pallido (sau — striato —) —spinală, sindromul lui Jacob, demenţa presenilă cu orbire corticală, sindromul lui Heidenhain, encefalopatia vasculară subacută cu tulburări mintale, atrofia spongioasă subacută presenilă, atrofia cerebrală subacută, boala Nevin-Jones, boala Brownell-Oppenheimer, polioencefalopatia presenilă subacută etc.

** În consecinţă, este prudent a se recomanda ca nici un ţesut, inclusiv sînge, de la bolnavi cu variate grade de demenţă să nu fie introdus în organismul altei persoane.

*** Virusul Scrapie inoculat la şoarece (femele, tulpina VM) determină o boală torpidă caracteristică şi formarea în creier, la cca 600 zile de la inoculare, de numeroase ***plăci neuritice*** (*senile*), leziune caracteristică la bolnavi cu demenţă senilă (boala lui Alzheimer, sindromul lui Down) şi prezente uneori, în număr redus, la oameni şi animale în vîrstă foarte înaintată. Plăcile senile sînt procese degenerative neuronale, celule reactive şi amiloid. Sînt similare cu „plăcile Kuru” găsite în bolile Kuru şi Creutzfeldt-Jacob.

Aceste boli diferă fundamental de bolile cronice ale SNC cu leziuni evidente *demielinizante* cauzate de virusuri diferite (inclusiv encefalomielite post-infecțioase), menționate în paragraful precedent.

BIBLIOGRAFIE

1. ACKERMANN R., STAMMLER A., ARMBRUSTER B. : Isolierung von Virus der Lymphozytären Choriomeningitis aus Abrasionsmaterial nach Kontakt der Schwangeren mit einem Syrischen Goldhamster (*Mesocricetus auratus*). *Infection*, *3*, 1, 47, 1975.
2. BANG F.B., WARWICK A. : Mouse Macrophages as Host Cells for the Mouse Hepatitis Virus and the Genetic Basis for Their Susceptibility. *Proc. Natl Acad. Sci.*, (USA), *46*, 1065–1075, 1960.
3. BAUBLIS J.V., PAYNE F.E. : Measles Antigen and Syncytium Formation of Brain Cell Cultures from Subacute Sclerosing Panencephalitis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, *129*, 593, 1968.
4. BLATTNER R.J., WILLIAMSON A.P., HEYS F.M. : Role of Viruses in the Etiology of Congenital Malformation. pp. 1–41, în J.L. Melnick (Ed.). *Progr. Med. Virol.*, vol. *15*, Karger, Basel, 1973.
5. BERENBERG W., NANKERVIS G. : Long-Term Follow-up of Cytomegalic Inclusion Disease of Infancy. *Pediatrics*, *46*, 3, 403–410, 1970.
6. DOCHERTY J.J., CHOPAN M. : The Latent Herpes Simplex Virus. *Bacteriol. Rev.*, *38*, 337–355, 1974.
7. GLICK J.H., LIKOSKY W.H., LEVITT L.P., MELLIN H., REYNOLDS D.W. : Reye's Syndrome : An Epidemiologic Approach. *Pediatrics*, *46*, 3, 371–377, 1970.
8. GRESSER I., LANG D.J. : Relationships Between Viruses and Leucocytes pp. 62–130, în L.J. Melnick (Ed.) : *Progr. Med. Virol*, vol. *8*, Karger, Basel, 1966.
9. HASPEL M.V., KNIGHT P.R., DAFF R.G., RAPP F. : Activation of a Latent Measles Virus Infection in Hamster Cells. *J. Virol.*, *12*, 690–695, 1973.
10. HORTA-BARBOSA, L., FUCILLO D.A., SEVER J.L., ZEMAN W. : Subacute Sclerosing Panencephalitis : Isolation of Measles Virus from a Brain Biopsy. *Nature*, *221*, 974, 1969.
11. JOHNSON R.T., MIMS C.D. : Pathogenesis of Viral Infections of the Nervous System. *N. Engl. J. Med.*, *278*, 23–30 ; 84–92, 1968.
12. MIMS C.A. : Aspects of the Pathogenesis of Virus Diseases. *Bacteriol. Rev.*, *28*, 1, 30–71, 1964.
13. MIMS C.A. „Pathogenesis of Rashes in Virus Disease. *Bacteriol. Rev.*, *30*, 4, 739, 1966.
14. NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH : Current Understanding of Persistent Viral Infections and Their Implications in Human Disease-Summary of a Workshop. *J. Infect. Dis.*, *133*, 6, 707, 1976.
15. OLDING L.B., KINGSBURY D.T., OLDSTONE M.B.A. : Pathogenesis of Cytomegalovirus Infection. *J. Gen. Virol.*, *33*, 267–280, 1976.

16. PLUMMER G.: Isolation of Herpesviruses from Trigeminal Ganglia of Man, Monkeys and Cats. *J. Infect. Dis.*, *128*, 3, 345–349, 1973.
17. RAY C.G., TUCKER V.L., HARRIS D.J., CUPPAGE F.E., CHIN T.D.Y.: Enteroviruses Associated with the Hemolytic-Uremic Syndrome. *Pediatrics*, *46*, 3, 378–388, 1970.
18. SABESIN S.M., KOFF R.S.: Pathogenesis of Experimental Viral Hepatitis. *N. Engl. J. Med.*, *290*, 944–950; 996–1002, 1974.
19. SCHNEIDER L.C., SCHOOP U.: Pathogenesis of Rabies and Rabies-like Viruses. *Ann. Inst. Pasteur*, Paris, *123*, 4, 469–476, 1972.
20. SHERLOCK S.: Chronic Hepatitis B Antigen Disease. *J. Roy. Coll. Phyns Lond.*, *8*, 24–29, 1973.
21. SMITH H.: Mechanisms of Virus Pathogenicity. *Bacteriol. Rev.*, *36*, 3, 291–310, 1972.
22. STERN H., ELEK S.D., BOOTH J.C., FLECK D.G.: Microbial Causes of Mental Retardation. The Role of Prenatal Infections with Cytomegalovirus, Rubellavirus and Toxoplasma *Lancet*, *ii*, 443–448, 1969.
23. WEINER L.P., JOHNSON R.T., HERNDON R.M.: Viral Infections and Demyelinating Diseases. *N. Engl. J. Med.*, May 24, 1103–1110, 1973.
24. WIKTOR, T.J., KOPROWSKI H., RORKE L.B.: Localized Rabies Infection in Mice. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, *140*, 759, 1972.
25. WISNIEWSKI H.M., BRUCE M.E. FRASER H.: Infectious Etiology of Neuritic (Senile) Plaques in Mice. *Science*, *190*, 1108, 1975.
26. ZUCKERMAN A.J.: *Virus Disease of the Liver*. Butterworths, London, 1970.

XLVI. APĂRAREA ANTIVIRALĂ

A. SISTEMUL DEFENSIV ANTIVIRAL

1) **Prima linie majoră de apărare,** așa-zisa *rezistență înăscută* este legată de rezistența celulelor de la sediile infecției primare, este independentă de imunitatea antigen-specifică și, pare a fi, determinată de factori controlați genetic. Această rezistență la infecții virale poate să țină de (i) incapacitatea virusului de a se atașa la receptorii membranei celulei, (ii) sinteză și eliberare de acid nucleic viral biologic inactiv din celulele infectate, (iii) asamblare defectuoasă a proteinelor structurale virale care duce la avortarea morfogenezei virionilor. Asemenea rezistență permite celulelor să se opună infectării cu virusuri ale altor specii și, dacă există diferențe genetice individuale, de asemenea și față de unele virusuri proprii speciei gazdă.

2) **A doua linie importantă de apărare antivirală** este constituită de *anticorpul secretor* și de *macrofage.*

a) **Anticorpul IgA secretor,** sintetizat și secretat local *, are rol însemnat în apărarea față de instituirea infecției virale primare a sero-mucoaselor cum sînt cea respiratorie și alimentară. Or, majoritatea virusurilor pătrund prin suprafețe mucoase externe și doar puține sînt introduse direct în sînge și țesuturi (ex. : virusul hepatitei B, arbovirusuri, vaccinuri vii). Persoanele la care lipsește IgA sînt marcant mai susceptibile la infecții acute și cronice ale mucoasei respiratorii.

b) **Macrofagele ****, celule mobile din sînge (monocite) sau fixe în țesuturi (histiocite), sînt prezente atît la sediile de multiplicare locală a virusului invadator (ex. : alveole pulmonare, țesut conjunctiv din submucoase, subcutanat) ori *liniind sinusurile* (celule litorale) din ganglioni limfatici, ficat, splină, măduvă osoasă etc. cît și în structura organelor-țintă (de ex. : microglia în sistem nervos central, celule reticulare din splină, ganglioni, măduvă, osteoblastele etc.).

Monocitele din sînge provin prin diviziune din precursori localizați mai ales în măduva osoasă ; rămîn în circulație un timp relativ scurt (cca 1 zi) apoi migrează în țesuturi împrospătînd continuu macrofagele tisulare fixe. În modul acesta există o sursă continuă de celule fagocitare mobile pentru a intra în sedii de infecție virală primară (sau alte arii inflamatorii).

---

* Produs al celulei plasmatice din *lamina propria* a intestinului.

** „Microfagele" (leucocite polimorfonucleare) nu pare să joace un rol important în apărarea antivirală. Agranulocitoza (deficitul de polimorfonucleare) clinică sau experimentală agravează infecțiile bacteriene dar nu și infecții virale.

Macrofagele din sînge şi ţesuturi execută funcţii esenţiale atît în faza de inducere a modificărilor imunitare cît şi în faza efector nespecifică a răspunsului imun mediat celular, procese care constituie substratul reacţiei inflamatorii celulare care are loc în infecţia virală acută (tabel 109).

Ca urmare, macrofagele concepute ca sistem funcţional reticulo-endotelial, condiţionează rezultatul infecţiilor virale ale gazdei în două moduri diferite :

(i) *eliminare sau frînare a invaziei organismului de către virus*, cînd macrofagele, în calitate de componentă principală a barierelor funcţionale sînge-organ, captează şi distrug unele virusuri şi astfel se interpun între sediul infecţiei primare şi organele „ţintă" susceptibile pe care le protejează ;

(ii) *virusul captat se replică în macrofage* care în acest caz pot servi ca focare de multiplicare şi căi de *difuzare a virusului* spre organele „ţintă".

— Eficienţa macrofagelor în apărarea antivirală este controlată genetic.

Studii pe linii consanguine de animale au demonstrat că rezistenţa şi susceptibilitatea la anumite virusuri este determinată de o singură pereche autosomală de gene, alela care conferă rezistenţa fiind dominantă. De exemplu, susceptibilitatea şoarecilor de anumite linii consanguine la virus gripal A neurotrop, oncornavirus murin, polyoma virus murin, virusul hepatitei şoarecelui (Coronavirus) sau virus ectromelia (orthopoxvirus), ca şi a unor linii pure de pui de găină Leghorn albă la virusul sarcomului Rous etc. este legată de o singură genă autosomală dominantă. La şoarece, gena autosomală care codifică susceptibilitatea la virusul leucemiei Gross este situată foarte aproape dacă nu chiar printre factorii genetici existenţi în *cistronii H-2*, care controlează antigenele de histocompatibilitate, regiune în care sînt plasate şi *genele Ir* care controlează (reglează) răspunsul imun.

Mecanismul celular prin care gena conferă rezistenţa se exprimă fenotipic în comportamentul macrofagelor (de fapt, a întregului SRE) faţă de virusul respectiv : virusurile care sînt incorporate şi distruse de macrofage nu infectează gazda şi, dimpotrivă, virusurile care sînt replicate sau purtate în stare nemodificată de către macrofage, infectează şi sînt patogene pentru acea gazdă. Există o corelaţie clară între susceptibilitatea la virusuri *in vivo*, testată direct pe animal, şi susceptibilitatea *in vitro*, testată pe culturi de macrofage.

Culturile de celule din pulmon, rinichi etc. se comportă la fel ca şi macrofagele din splină sau exsudatul peritoneal de la aceeaşi gazdă.

— Eficienţa antivirală a macrofagului depinde de gradul de maturare: macrofagul imatur al animalelor foarte tinere, inclusiv de făt sau nou-născut uman, este ineficient pentru protecţie şi, dimpotrivă, ar avea rol în susceptibilitatea crescută şi patogeneza infecţiilor virale fetale şi neonatale.

Maturarea macrofagului ar ţine de numărul lizozomilor primari şi de activitatea enzimelor hidrolitice (fosfatază acidă, beta-glucuronidază, cathepsina şi alte hidrolaze acide).

Oricît de intensă ar fi captarea şi distrugerea virusului din sînge de către macrofage, o cantitate mică de virus, asociată cu celule albe sau hematii, nu poate fi fagocitată.

Intervenţia mononuclearelor (limfocite şi macrofage) în aria infecţiei virale primare este esenţială întrucît condiţionează şi declanşează constituirea celei de a treia linii de apărare, „*reacţia inflamatorie*" constînd din (i) *factori nespecifici,* dintre care unii au eficienţă antivirală cum sînt aciditatea, hipoxia şi interferonii şi din (ii) *componente specifice*: *imunitatea mediată celular* şi, eventual, *umoral.*

3) **Al treilea sistem major de apărare.**

a) **Anticorpul circulant,** în special IgG dar şi IgM, deseori limitează difuzarea virusului prin torentul circulator şi multiplicarea în organe „ţintă" cum sînt ficatul, cordul, sistemul nervos central etc.

Anticorpii serici circulanţi sînt eficienţi (i) *faţă de virusuri care împrumută calea sanguină* pentru a ajunge în organul sau organele „ţintă" (ex.: poliovirus, togavirus) şi (ii) *dependent în primul rînd de experienţa anterioară* a gazdei cu virusul respectiv sau virusuri strîns înrudite.

Sinteza de anticorpi specifici circulanţi în cantitate semnificativă pentru protecţie presupune multiplicarea prealabilă a virusului pînă la pragul imunogenic semnificativ al antigenelor virale implicate în infecţia celulelor. De aceea, în general, răspunsul imun specific umoral este *o consecinţă a infecţiei primare* (sau vaccinării), *contribuie la vindecarea acesteia* şi *conferă protecţie faţă de reinfecţie.* Nu este exclusă însă posibilitatea *sintezei locale* de anticorp şi interferon în aria infecţiei primare cu rol în neutralizarea virusului şi limitarea difuziunii.

b) **Imunitatea mediată celular.** Sînt virusuri ca de exemplu herpesvirus, poxvirus, anumite myxovirusuri etc. care, odată ce au stabilit infecţia celulară, se pot difuza în ciuda prezenţei anticorpilor circulanţi. În aceste situaţii rolul protector este exercitat de *imunitatea mediată celular.*

c) **Reacţia inflamatorie** care se produce la sediul multiplicării virusului, se exprimă prin procese şi elemente prezente în orice inflamaţie: dilatarea capilarelor, exsudarea plasmei cu formare de edem, aflux precoce de polimorfonucleare şi mai ales de mononucleare (limfocite şi macrofage) în ţesuturile afectate.

Diversele stadii ale procesului inflamator pot varia în raport cu virusul şi sediul leziunilor, infiltraţia predominant cu mononucleare fiind însă caracteristică.

Încetinirea circulaţiei în zona inflamaţiei cu acumulare locală de produse acide (bioxid de carbon, acizi organici) este urmată de *aciditatea locală şi scăderea tensiunii de oxigen (hipoxie)* ceea ce determină o deviere spre glicoliză anaerobă cu producţie locală crescută de acid lactic. Asemenea factori, acţionînd sinergic cu *interferonul* şi *răspunsul febril* se opun multiplicării locale şi difuzării virusului spre alte sedii şi contribuie la vindecarea infecţiei virale.

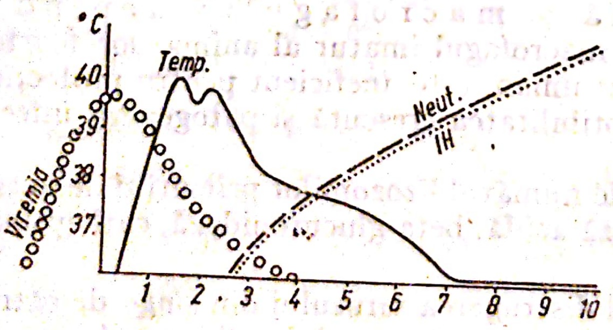


Fig. 247: Relaţii temporale între multiplicarea virusului (viremie), boală (curba termică) şi apariţia anticorpilor (neutralizanţi şi inhibitori ai hemaglutinării) în infecţia cu arbovirus.

— Febra constituie un simptom cardinal al infecţiei virale acute şi, în multe cazuri, are un caracter bifazic.

Este rezultatul dezechilibrului între producerea crescută și pierderea scăzută de căldură ca urmare a infecției virale. Reducerea pierderii de căldură prin radiație și convecție în primele stadii ale febrei este evidențiată de pielea rece și palidă. Deși temperatura corpului poate fi ridicată, bolnavul are deseori senzația de frig extrem (frison etc.). Scăderea temperaturii pielii face ca să intre în joc mecanismul reglării chimice prin excitarea termostatului hipotalamic posterior: spasmul vaselor subcutanate cedează, crește fluxul de sînge prin piele care devine roșie, bolnavul simte o căldură intensă și începe să piardă căldură. Ulterior, febra poate să continue însoțind evoluția bolii. În cursul febrei nu este vorba de o dereglare a termostatului ci de o nouă acordare, adică de o reglare a punctului de referință la un nivel mai ridicat.

Temperaturi mai mari de 41,7°C sînt periculoase putînd afecta vital celulele. În peste 95% din cazuri însă nu depășește 41,1°C.

Febra nu trebuie privită ca o reacție nocivă prin ea însăși ci, dimpotrivă, favorabilă organismului prin (i) diminuarea sau chiar sistarea sintezei de virus la temperaturi supraoptimale de 40°—41°C, (ii) inactivarea virusului extracelular prin schimbarea concentrațiilor unor metaboliți în țesuturi și intensificarea proceselor catabolice la valori termice crescute, (iii) intensificarea sintezei de anticorpi favorizată de creșterea temperaturii etc.

— Interferonul leucocitar[*], unul din mediatorii biologici eliberați de limfocite imune stimulate de antigenul specific care nu conține acid nucleic (ex.: tuberculină, BCG) sau stimulate nespecific, inhibă experimental multiplicarea virusurilor (vezi cap. XLII) și ca atare poate limita multiplicarea și invazia virală în infecții naturale în condiții mai curînd speciale: ca mediator al reacțiilor imune celulare.

Experimental, adăugarea la culturi de celule renale de iepure infectate cu virus herpetic (HSV) de puține *limfocite* (sub 2,5 : 1) provenind de la un animal imunizat cu tuberculină și stimulate cu PPD, inhibă replicarea virusului cu peste 99,9% (PPD singur nu are nici un efect). O inhibare semnificativă a producției de virus se obține chiar și la o rație de 1 : 200 în timp ce pentru distrugerea celulei „țintă" prin acțiune citotoxică specifică a leucocitelor imune sînt necesare rații de 10 :1 pînă la 100 :1. Efectul ține de eliberarea de mediatori biologici, între care și interferon.

În infecția cu herpesvirus *in vivo* însă, rezistența asociată cu macrofagele nu pare să țină de capacitatea acestora de a sintetiza interferon. De asemenea, în infecția cu virusul febrei galbene, sinteza de interferon este mai curînd legată de titrul virusului decît de rezistență.

Ținînd seama că în anumite circumstanțe are efect imunosupresiv, rolul interferonului ca mecanism semnificativ de apărare în condiții naturale de infecție nu a fost încă lămurit cu claritate.

---

[*] Spre deosebire de *interferonul standard sau fibroblastic* (sau *interferon tip I sau citokine*) eliberat la stimulare prin acid nucleic viral de către celule altele decît limfoide (vezi cap. XLII), *interferonul leucocitar* (sau *interferon tip II*) face parte dintre limfokine (sintetizat și eliberat de limfocite T mature imune la stimulare cu antigen omolog sau cu mitogeni care nu conțin neapărat acizi nucleici), producția fiind intensificată prin recrutarea de macrofage în acest proces. Este instabil la pH 2.0, este inactivat la 56°C, este diferit antigenic și prin unele proprietăți biologice. Considerate sub acest aspect, limfokinele reprezintă o anumită categorie de citokine, anume acele sintetizate și liberate de limfocite activate specific sau nespecific. Citokinele ar constitui un sistem celular primitiv de auto-apărare („*self-defense system*").

— Virusurile reuşesc să înfrîngă sistemul defensiv al gazdei prin variate mecanisme ca de exemplu: (i) lichefierea mucusului protector prin acţiunea neuraminidazei virale şi descoperirea receptorilor celulari (myxovirusuri), (ii) replicarea în celule mobile şi difuzare spre organele „ţintă" (togavirusuri), (iii) producerea de inhibitori pentru interferon (picornavirus), (iv) existenţa de multiple tipuri serologice (enterovirus, adenovirus etc.), (v) variaţie antigenică la presiune imunologică (orthomyxovirusuri), (vi) modulare antigenică a suprafeţei celulelor infectate (virus rujeolic, oncornavirus etc.), (vii) inducerea infecţiei neproductive cu genom integrat şi transmisie verticală (oncornavirus, herpesvirus etc.), (viii) inducerea de imunosupresie (virus rujeolic, oncornavirus) sau imunotoleranţă (virusul choriomeningitei limfocitare) etc...

B. RĂSPUNSUL IMUN* CELULAR ŞI UMORAL

Majoritatea infecţiilor virale acute şi cronice se asociază cu răspuns inflamator caracterizat de acumulare perivasculară de celule mononucleare, reacţie tradiţional considerată ca răspuns nespecific la distrucţii celulare şi tisulare induse de virus.

Date recente sugerează, dimpotrivă, că *răspunsul inflamator este o expresie a răspunsului imun mediat celular* la antigene virale.

Se consideră că punctul de plecare (momentul declanşator) al răspunsului imun (celular şi umoral) şi implicit al celui inflamator este recunoaşterea de către limfocitul specific sensibilizat a antigenelor induse de virus pe membrana celulei infectată.

1. ANTIGENE VIRALE

În cursul infecţiei virale apar multe *proteine noi* care pot funcţiona ca antigene (i) fără a fi modificate, (ii) după glicozilare de către enzime ale gazdei ori (iii) după ataşare la lipide în membrane.

Corelaţiile structural-antigenice sînt relativ bine cunoscute pentru multe virusuri cum sînt picorna-, adeno-, myxo-, toga-, rhabdo-, oncornavirusurile şi, în măsură mai redusă, pentru virusuri mai complexe cum sînt herpes- şi poxvirusuri.

De exemplu, *genomul virusului gripal* codifică o proteină nestructurală şi cinci proteine structurale, prezente în virion: trei proteine interne (proteinele M, P şi NP) şi două proteine glicosilate incluse în înveliş (hemaglutinina şi neuraminidaza). Toate proteinele pot servi ca antigen dar numai glicoproteinele sînt importante imunologic. Lipidele şi carbohidraţii din virion sînt specifici de gazdă.

Importanţa ca antigen a unei proteine virale depinde de multipli factori: (i) localizarea în celulă, (ii) dacă este sau nu o proteină structurală a virionului, (iii) densitatea şi gradul de expunere pe suprafaţa virionului sau a membranelor celulare, (iv) proximitatea sau combinarea cu substanţe gazdă, (v) imunogenitatea intrinsecă, (vi) dacă reacţia cu anticorpul poate declanşa un proces imunopatologic.

---

* Termenul de „imunitate" este restrîns la manifestările cu caracter protector al reacţiilor imune umorale şi celulare dezvoltate numai de gazde vertebrate.

Antigenele virale se împart în (1) *structurale* (prezente în virion) şi (2) *nestructurale* (sînt virus specifice, induse de virus în cursul infecţiei, dar nu apar în virionul matur). Din prima categorie fac parte „antigenele de neutralizare" : situsurile de pe virion la care ataşarea anticorpului specific este urmată de anularea infectivităţii.

Ambele categorii de antigene pot să apară pe suprafaţa celulelor infectate şi aceasta să le transforme în „ţinte" pentru agresiune imunologică prin (i) limfocite citotoxice ; (ii) citoliză mediată de complement (după ataşarea anticorpilor specifici) ; (iii) interacţiune cu macrofage „activate" sau celule K (*killer* = ucigaş). În cursul infecţiei virale pot apare şi alte alterări ale suprafeţei celulei, mai puţin specifice.

a) **Antigene de „neutralizare" ale virionului.**

(i) La *virusurile cu înveliş extern* care se maturează prin „înmugurire" majoritatea proteinelor structurale din suprafaţa virionului sînt *glicoproteine* * : orthomyxovirus, paramyxovirus, rhabdovirus, togavirus, arenavirus, oncornavirus şi cel puţin unul dintre antigenele de suprafaţă la herpesvirus (tabel 117).

Determinantul antigenic este situat pe componenta proteică ; componenta carbohidrat fiind specificată de gazdă este tolerată imunologic.

(ii) La *virusuri „goale"*, fără înveliş, ca de exemplu : adenovirus, picornavirus, reovirus etc., antigenul de neutralizare este o *proteină* structurală a capsidei.

Tabelul 117

Polipeptidele structurale şi antigenele virusului gripal
(vezi fig. 182)

Polipeptidul	Greutate moleculară	Număr aproximativ de molecule în virion	Topografie şi proprietăţi antigenice
P_1	94 000	50	Proteine minore interne cu funcţii şi antigenitate necunoscute.
P_2	81 000	50	
Na	60 000	aprox. 200	Glicoproteină de înveliş, antigen neuraminidază, antigenitate variabilă.
NP	53 000	aprox. 1000	Proteină internă, ribonucleoproteină, antigen, antigenic stabil, asociat cu RNA.
HA_1	58 000	aprox. 1000	Glicoproteine de înveliş componente a hemaglutininei, antigen alcătuit din lanţ greu (HA1) şi lanţ uşor (HA2) unite prin legături disulfur, antigenitate variabilă.
HA_2	28 000	aprox. 1000	
M	25 000	aprox. 3000	Proteină internă, antigen proteină matrice, antigenic stabil ; plasat sub membrana lipidică a virionului

(după *Schild* şi *Dowdle*, 1975)

---

* Proteinele virale incorporate în membrana celulei gazdă sînt glicozilate pentru a stabili o polaritate a proteinei cu grupările carbohidrat hidrofile plasate spre exterior. După „înmugurire" aceste glicoproteine apar ca proiecţii expuse la suprafaţa virionului.

Tabelul 118

Virusurile pentru care au fost puse în evidență antigene specifice pe suprafața celulelor infectate *
(după *Burns* și *Allison*, 1975)

Grup	Virus
Oncornavirus	Leucemiei murine
	Adenocarcinomului mamar al șoarecelui
	Leucemiei felinelor
	Leucozei aviare
Orthomyxovirus	gripal tip A
Paramyxovirus	oreionului
	Sendai
	SV5
	rujeolic, pesta bovină, jigodiei canine, respirator sincițial
Togavirus	Chikungunya
	encefalitei ecvine de Venezuela
	encefalitei ecvine de Est
	Sindbis
	Denga
Rhabdovirus	rabic
Arenavirus	choriomeningitei limfocitare
Herpesvirus	herpes simplex
	varicella-zoster
	Citomegalovirus
	Epstein-Barr
	bolii lui Marek
Poxvirus	vaccinia, cowpox, monkeypox
	fibromului Shope
Adenovirus	adenovirus tip 12
Papovavirus	SV40
	polyoma

* Evidențierea antigenelor de suprafață prin: anticorp specific plus complement, imunoaderență, imunoelectronomicroscopie, imunofluorescență, radioimunotestare sau citotoxicitate mediată de limfocite specific sensibilizate, imunoperoxidaza.

b) Antigene „de suprafață" ale celulei gazdă.

Infecțiile virale, în special cu virusuri învelite și cu virusuri transformante, în afara modificărilor profunde în fiziologia, comportamentul și relațiile celulei gazdă, determină *alterări ale membranei celulare exprimate prin modificări antigenice cu răsunet deosebit în patogeneză* (tabel 118).

(i) *Apariția de antigene noi specifice de virus.* Acestea sînt antigene specifice de înveliș viral care apar în infecțiile cu: (1) virusuri care „înmuguresc" la suprafața celulelor (myxo-, paramixo-, rhabdo-, areno-, toga- și oncornavirus); (2) virusuri care se învelesc în membranele nucleară sau intracitoplasmice (poxvirus și herpesvirus) sau (3) antigene nestructurale care apar numai pe membrana celulelor transformate numite antigene TSTA (*tumor specific transplantation antigen*).

Există mutanți a virusuri învelite (poxvirus; oncornavirus) care nu induc antigenele de suprafață așteptate.

Antigenele „de suprafață" pot fi puse în evidență (1) *indirect* prin teste de transplantare a celulelor infectate, (2) *direct* prin localizare cu seruri imune marcate cu fluorocromi, radioiod, feritină sau peroxidază în teste de imunofluorescență, imunoautoradiografie și imunoelectronomicroscopie ori (3) prin *lezare specifică* cu anticorp sau cu celule limfoide citotoxice.

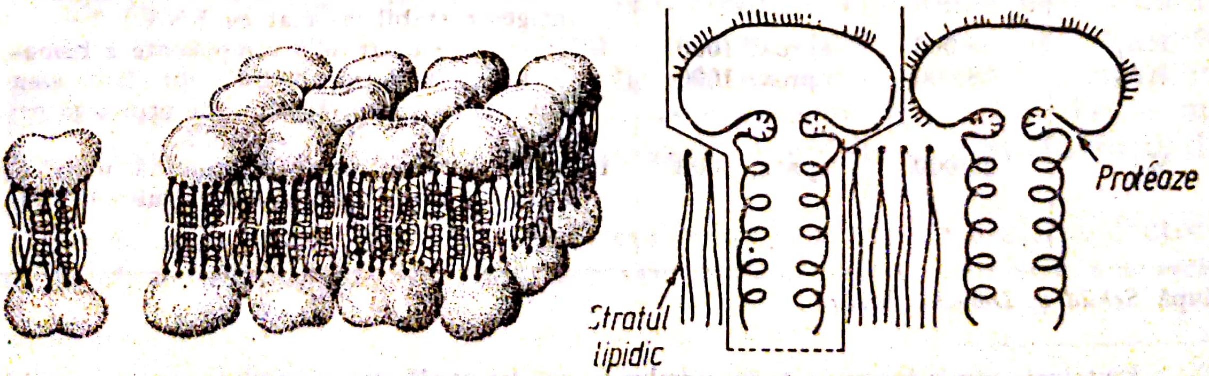


Fig. 248: Model structural al membranei celulare alcătuită din dublu strat lipidic în care sînt implantate antigene, receptori.

Antigenele de suprafaţă virus-specifice apar pe membrana celulei gazdă la scurt timp după infecţie (ex. : la 3 ore după infecţia cu virusul bolii Newcastle, la 4 ore cu virus gripal, Sindbis, VEE *, vaccinia, la 6 ore cu herpesvirus şi la 24—48 ore cu virus rujeolic, jigodios, pestei bovine) fiind deci expresia unei funcţii precoce a genomului viral.

Picornavirusurile nu determină apariţia de antigene pe suprafaţa celulelor gazdă la fel ca şi, probabil, reovirusuri şi parvovirusuri.

(ii) *Fluctuaţii în densitatea antigenelor virale* pe suprafaţa celulelor infectate pot juca un rol deosebit de important în patogeneza infecţiilor virale. De exemplu, expunerea la cantităţi mici de anticorp sau la anticorp care nu fixează complementul poate avea ca rezultat endocitoza porţiunilor din membrană care conţin antigen viral.

(iii) *Apariţia de antigene „noi" specifice de gazdă.* În unele infecţii virale apar antigene „noi" prin *demascarea* de substructuri antigenice gazdă prezente mai profund în membrană sau prin *derepresia* de gene gazdă, aşa cum sînt *antigenele Forssman, antigene embrionare* sau *de grup sanguin* care apar, de exemplu, pe celule de linie BHK transformate de SV40, polyoma sau sarcom Rous, etc.

(iv) *Fluctuaţii în densitatea antigenelor normale specifice de gazdă.* În alte cazuri, infecţia virală poate induce *diminuarea antigenelor normale* ale membranei celulei (ex. : infecţia cu VSV ** reduce cu 70% iar infecţia cu. NDV * reduce cu 50% antigenele H-2 de pe membrana celulelor de şoarece).

(v) *Apariţia de antigene rezultate din combinaţia de material viral şi material gazdă.* Date recente arată că unele antigene de suprafaţă induse de virus sînt combinaţii de material viral şi gazdă. Astfel, limfocitele T de şoarece infectat cu virus CML mediază o reacţie citotoxică numai cu acele celule „ţintă" infectate cu care au în comun determinanţi antigenici situaţi în regiunea K sau D a locusului H-2. (Explicaţii posibile : limfocitul imun recunoaşte antigenul compus din material viral şi material H-2 ori infecţia virală alterează antigenele H-2 care nu mai sînt recunoscute drept „self" de către limfocit).

Fluctuaţia distribuţiei antigenelor sau receptorilor pe membrane este un fenomen general denumit *modulare antigenică,* de un interes deosebit mai ales în infecţii virale persistente, lente, transformante.

MODULARE ANTIGENICĂ

Antigenele virale „de suprafaţă", ca şi antigenele-gazdă, sînt proteine integrate care traversează stratul dublu de fosfolipide din care este constituită membrana celulei şi sînt expuse la suprafaţă.

Celulele *acut* infectate exprimă de 2—3 ori mai mult antigene de suprafaţă virus-induse decît celulele *persistent* infectate.

---

* Encefalita ecvină de Venezuela

** Virusul stomatitei veziculare

* Virusul bolii din Newcastle

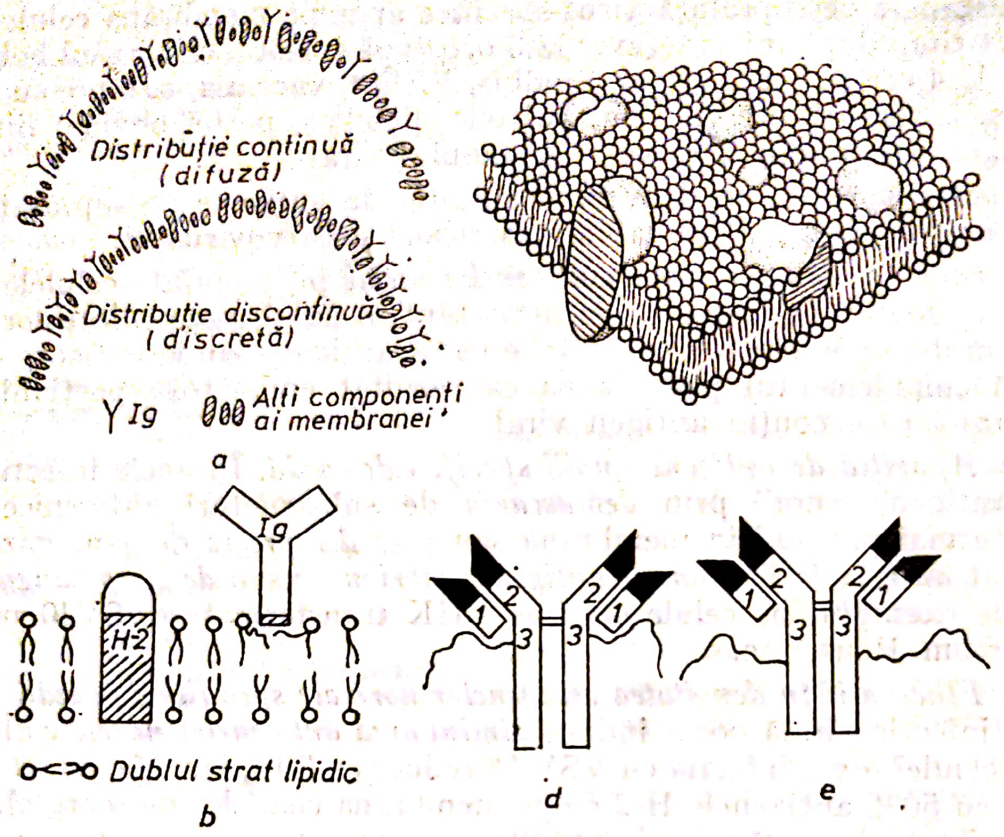


Fig. 249 : Reprezentări schematice a fluctuații în distribuția și densitatea antigenelor (receptorilor) pe suprafața celulei.

a : Modalități de distribuție.

b : Integrarea antigenelor (H–2) și receptorilor pentru Ig (după *Vitetta, E.* și *Uhr, J.*),

c : Modelul structurii fluide a membranei cu expunere la suprafață de antigene integrate (după Singer, J. și Nicolson, G.) și de imunoglobuline (după Marchalonis, J. și Cone, R.) care pot să expună exclusiv regiunea *Fab* (*1*, *2* în fig. *d*) sau și o parte din regiunea *Fc* (*3* în fig. *e*). (după *V. Gheție*).

Spre deosebire de aceste antigene, *receptorii* pentru IgG, IgM, IgE sau C_3 sînt „îngropați" în membrană și ca urmare, anticorpul respectiv este atașat cu extremitatea *Fc* în dublu stratul lipidic al membranei limfocitului B (posibil și T), macrofagului și respectiv, bazofilului, pe care nu o traversează complet lăsînd expus la suprafață fragmentul *Fab* de combinare cu antigenul.

Normal, distribuția topografică a antigenelor este regulat spațiată și densitatea antigenelor este relativ constantă.

Ca rezultat al ciclului replicativ sau al acțiunii unor factori (ex. : anticorpi, mitogeni, alți liganzi) asupra membranei, atît densitatea cît și distribuția antigenelor „de suprafață" pot suferi modificări importante.

Modularea antigenică („antigen modulation" or „reshuffling") constă în cinetica dispariției și reapariției, în mișcarea și redistribuția acestora pe suprafața celulei, ceea ce determină *aspecte topografice variate* : în locul distribuției uniforme *inelară* are loc o redistribuire activă a antigenelor *„în petece"* („patches") care pot fi apoi concentrate *„în bonetă"* la un pol al celulei („capping" sau „cap-formation") urmat de exfoliere în mediu sau, invers, endocitare (fig. 250).

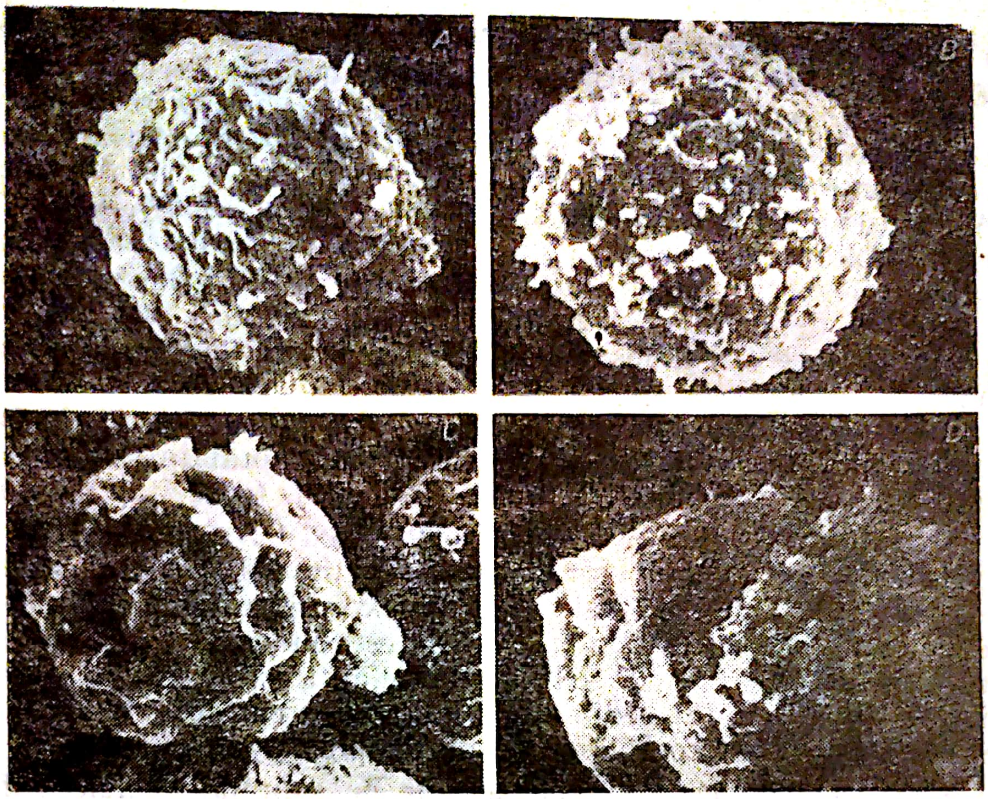


Fig. 250: Redistribuţia antigenelor pe suprafaţa celulelor de linie NC—37 în infecţia cu tulpini de virus rujeolic.

a : celula neinfectată are numeroase microvilozităţi uniform distribuite;
b : celula infectată cu tulpina Schwarz are suprafaţa modificată;
c şi *d* : celule infectate cu tulpina TYCSA prezintă aspecte de „bonetare" şi exfolierea antigenelor.
(*Minagawa, T.* şi colab.)

Modularea antigenică necesită (i) metabolism celular activ, (ii) prezenţa de anticorp (ligand) multivalent şi (iii) microfilamente sau microtubuli în funcţionare.

Această suită de evenimente este un fenomen interesînd multe proteine de suprafaţă şi este indus de liganzi multivalenţi diferiţi care leagă încrucişat proteinele specifice distribuite pe membrane: anticorpii bivalenţi antiproteine virale modifică distribuţia exclusiv a antigenelor specifice, anticorpii anti-IgG receptor modifică topografia receptorilor IgG, proteina A multivalentă a stafilococului (*SpA*) leagă încrucişat fragmentele Fc de pe receptori IgG construind dublete etc.

Uneori mişcarea interesează concomitent şi alte proteine antigen sau receptor, fenomen denumit *co-bonetare* („co-capping"). Astfel, simultan cu modificarea distribuţiei antigenului gazdă de transplantare H-2, ca urmare a intervenţiei unor factori influenţînd densitatea acestuia, se modifică şi un antigen tumoral virus-specific TSTA de pe suprafaţa celulelor transformate de virus.

Mişcarea şi redistribuţia antigenelor virale pe membrane şi, respectiv, a receptorilor IgG, au consecinţe importante atît pentru apărarea antivirală cît şi imunopatologie. Astfel, între altele, aceste fenomene care au loc în membrană ar avea rol în:

(i) *Construirea de „ţinte" antigenice* virus specifice pentru acţiune antivirală a anticorpilor sau macrofagelor şi/sau limfocitelor T citotoxice.

(ii) *„Armarea” macrofagelor şi limfocitelor K* cu IgG sau IgM în vederea distrugerii celulelor „ţintă” prin mecanism imunologic specific.

(iii) *Legarea antigenului multivalent la receptorii IgG* redistribuiţi „în petece” este probabil esenţială în *activarea limfocitului* de către antigen avînd drept consecinţe eliberarea de limfokine.

(iv) De asemenea, este posibil ca *funcţia helper a limfocitului T*, de a coopera la producerea de anticorp de către limfocitele B, constă tocmai în aceea de a-i prezenta pe suprafaţă antigenul într-o dispoziţie multivalentă graţie formării de „petece” sau „bonete” de receptori sau ca urmare a legării „în grătare” a moleculelor antigen de către receptorii exocitaţi de celula T.

(v) *Instituirea şi/sau menţinerea infecţiilor virale persistente* : în prezenţa anticorpilor antivirali, antigenele specifice de pe suprafaţa celulei infectate „bonetează” şi sînt exfoliate în mediu sau endocitate (pinocitate) ; ca urmare, celula scapă acţiunii factorilor apărării specifice.

Experimental, în infecţia cu *virus rujeolic* (fig. 250), în decurs de 12 ore după expunerea la anticorp, peste 40% din expresia antigenică de pe suprafaţa celulelor infectate acut sau persistent este îndepărtată, ceea ce reprezintă aproximativ $1-3 \times 10^7$ sedii de fixare anticorp per celulă acut infectată şi $8 \times 10^7 - 7 \times 10^7$ sedii per celulă persistent infectată. Antigenul viral exfoliat este găsit complexat cu anticorpul în faza fluidă.

Odată antigenele virale îndepărtate de pe suprafaţa celulei infectate, celulele devin rezistente la injuria mediată imunologic (umoral sau celular), răspunsul imun devenind astfel fără obiect.

În plus, îndepărtarea antigenului rujeolic de pe suprafaţa celulelor acut infectate *modifică* o infecţie virală citocidă aşteptată, asociată cu evenimente de membrană cum sînt formarea de sinciţii şi celule gigante, într-o infecţie persistentă, ne-letală, fără sinciţii sau celule gigante. Celulele tratate în acest fel *acumulează nucleocapside virale* în citoplasmă şi nuclei şi sînt rezistente la liza prin anticorp şi complement.

În infecţia experimentală abortivă a celulei HeLa cu *virus gripal*, la 7 ore după infecţie, pe membrana plasmatică apar antigene virale distribuite regulat, pe toată suprafaţa celulei. Adausul de anticorp antiviral induce, în 10 minute la 37°C, redistribuirea antigenelor virale „în petece” cu formare subsecventă de „bonetă” şi exfolierea complexelor antigen-anticorp în mediu, suprafaţa celulelor infectate rămînînd lipsită de expresie virală.

Procese similare au fost demonstrate în infecţii cu virusul pestei aviare (orthomyxovirus), virusul pseudopestei aviare (paramyxovirus), virusul leucozei aviare (oncornavirus).

Este posibil ca un asemenea mecanism să joace rol central în patogenia a multiple infecţii virale persistente la om asociate cu răspuns în anticorpi.

În *hepatita cu virus B*, antigenul HBs a fost pus în evidenţă prin imunofluorescenţă şi *pe suprafaţa* a 3—20% din celulele hepatice viabile obţinute prin biopsie la 5 din 7 bolnavi cu *infecţie acută* şi, dimpotrivă, a lipsit constant pe suprafaţa hepatocitelor la 8 bolnavi cu *hepatită cronică* la care însă AgHBs era prezent în citoplasmă.

(vi) *Apariţia pe celule de receptori pentru porţiunea Fc a moleculei IgG ca urmare a infecţiei cu virus herpetic (HSV)*. Pe toate celulele infectate cu HSV, inclusiv fibroblaşti şi celule epiteliale de şoarece, hamster, maimuţă şi om, la 4 ore după infecţie apar receptori pentru porţiunea Fc a IgG de iepure sau de om ; la 11 ore de la infectare fiecare celulă leagă pînă la 5×10^4 molecule IgG.

Se consideră că aceşti receptori sînt proteine gazdă glicozilate, a căror genă structurală face parte din *complexul genic Ir* care controlează răspunsul imun şi pe baza cărora sînt sintetizaţi receptori Fc prezenţi pe macrofage, neutrofile, limfocite B şi, posibil, unele limfocite T. Infecţia HSV ar avea ca rezultat derepresia genei (genelor) gazdă care controlează sinteza receptorului Fc.

În consecinţă, infecţia virală a limfocitelor cu virusuri care activează gene în complexul *Ir* ar putea afecta răspunsurile imune, sau chiar iniţial răspunsuri autoimune.

Modularea antigenelor şi receptorilor indusă de anticorpi (sau liganzi, este un fenomen general, demonstrat nu numai pentru imunoglobulinele de pe suprafaţa limfocitului, ci pentru o întreagă varietate de alloantigene pe limfocit de şoarece (Theta, TL, H-2), pentru HL-A pe limfocitul de om, pentru diferiţi mitogeni (PHA *, concanavalina A, *pokeweed*, endotoxină), pentru IgE pe bazofil uman etc.

Faptul că multe proteine „de suprafaţă" se pot mişca în planul bidimensional al membranei în raport cu alte proteine sugerează că membrana citoplasmică este fluidă la temperaturi fiziologice.

Rezultă că mulţi receptori de suprafaţă nu sînt statici şi fixaţi rigid în membrană ci, dimpotrivă, sînt supuşi migrării şi redistribuirii în condiţii apropiate.

2. RĂSPUNSUL IMUN UMORAL ÎN INFECŢII VIRALE

Caracteristicile răspunsului în anticorpi specifici antivirali sînt legate de (i) modelul natural patogenetic al infecţiei virale, (ii) natura şi tipul antigenului viral imunologic activ, (iii) natura ţesutului imunocompetent disponibil, (iv) calea de infecţie, (v) contacte antigenice anterioare, şi alţi parametri ai interacţiunii virus-gazdă.

Din cele cinci clase de imunoglobuline, activitatea antivirală este asociată cu IgM, IgG şi IgA.

a) **Imunoglobulinele serice.** Derivă în principal din organele cu ţesuturi imunocompetente (splină, ganglioni limfatici etc.) şi constau mai ales în IgG şi IgM, în timp ce IgA, IgE şi IgD sînt componente serice minore.

La adult normal există un mare număr de celule producătoare de anticorpi (limfocite B) în măduva osoasă, splină, ganglioni limfatici şi în lamina propria a suprafeţelor mucoase externe, în special a tractelor respirator şi alimentar. În număr mai mic, se află şi în alte ţesuturi.

Care anume ţesut imunocompetent va fi implicat în elaborare de anticorpi depinde în mare măsură de tipul de infecţie virală :

(i) în infecţii diseminate asociate cu replicarea virusului în ţesuturi sistemice, răspunsul în anticorpi survine în multiple sedii imunocompetente (ex. : splină, ganglioni limfatici, măduva osoasă etc.) ;

---

* PHA = Fitohemaglutinina

(ii) în infecţii virale limitate la suprafeţe mucoase majoritatea anticorpilor sînt produşi local în ţesutul limfoid din mucoasă.

IgM (coeficient de sedimentare 19S) este prima clasă de imunoglobuline care apare, filogenetic şi ontogenetic, ca urmare a expunerii la antigene virale în cursul infecţiilor intrauterine sau postnatale; sînt prezente mai ales intravascular şi nu străbat placenta mamiferelor.

IgG, imunoglobulină 7S, reprezintă cca 75% din Ig serice; trece prin placentă protejînd nou-născutul de infecţii virale. Imunitatea de lungă durată după infecţii virale este asociată cu persistenţa anticorpilor IgG.

IgG sînt mai eficienţi în neutralizarea virusului în timp ce IgM sînt mai activi în reacţiile de fixare şi de aglutinare.

IgA există în ser sub formă de monomer 7S reprezentînd cca 10% din conţinutul în Ig. Semnificaţia acestora pentru apărarea antivirală încă nu este lămurită.

IgD şi *IgE* se află în ser în concentraţii extrem de mici şi nu au fost legate de vreo activitate antivirală.

(i) *Răspunsul primar* la infecţii sau vaccinuri virale *este bifazic*: întîi şi rapid (la 12—24 ore) apar IgM, titrul lor creşte repede atingînd maximum la cca 12 zile şi dispar către două luni. Scurt timp după IgM apar şi IgG; titrul lor creşte începînd de la sfîrşitul primei săptămîni, atinge maximum spre a patra săptămînă şi persistă timp îndelungat după dispariţia IgM.

Această dinamică şi faptul că IgM sînt prin excelenţă anticorpi fixatori de complement, impun RFC ca metodă de elecţie în serodiagnosticul infecţiei virale recente.

(ii) *Răspunsul secundar*. IgG prezintă o curbă caracteristică pentru răspuns anamnestic („memorie imunologică") la contactul repetat cu antigenul viral (vezi fig. 282). IgM, în schimb, are o dinamică similară cu aceea din răspunsul primar, argument în plus pentru utilizarea RFC în serodiagnostic.

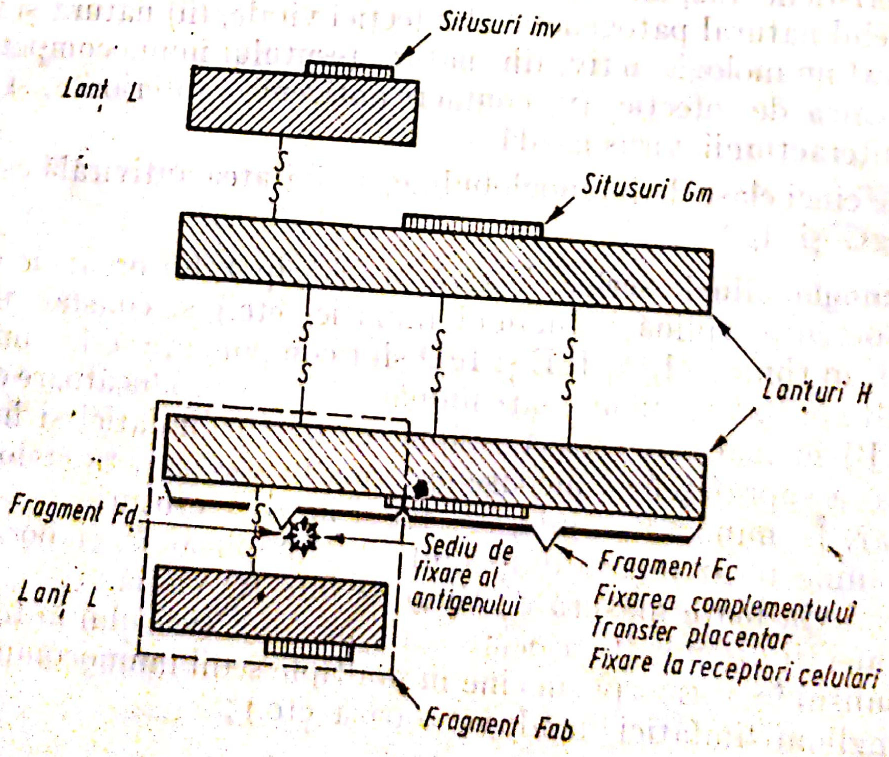


Fig. 251: Structuri şi funcţii în molecula IgG.

b) **Imunoglobuline secretorii.** În secrețiile care acoperă suprafețele mucoase (respiratorie, gastro-intestinală, oculară, genitală) ca și în secreția glandei mamare, glandelor salivare, în amigdale, apendice se află toate cele trei clase majore de Ig serice însă *IgA este de departe imunoglobulina predominantă* și apare structural diferită : o moleculă dimerică 11S formată din două monomere IgA 7S, legate printr-un lanț polipeptidic J („joining”) și cuplat cu o structură neimunoglobulinică, *componenta sau piesa secretorie, PS* . Toate trei sînt secretate local dar contribuie și Ig serice.

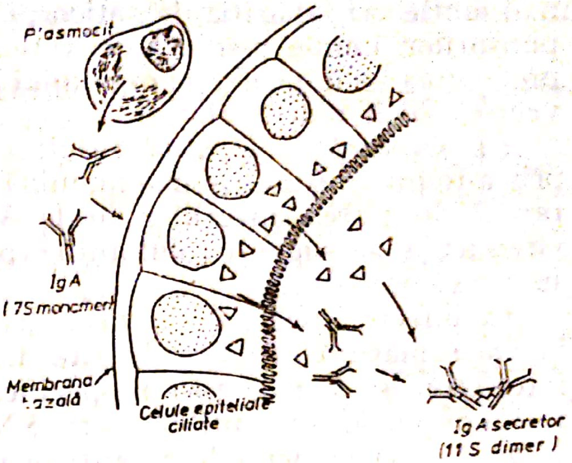


Fig. 252 : Formarea moleculei IgA secretor : este sintetizată de celule plasmatice situate în submucoasă iar celula epitelială produce piesa secretorie. Două molecule IgA 7S sînt legate printr-o piesă secretorie și sînt eliberate în fluidul care acoperă mucoasa sub formă de complex dimer IgA 11S. (*Bellanti, J.A.*)

(i) *Răspunsul primar* la infecții cu entero-, rhino-, adeno-, orthomyxo-, paramyxovirusuri, virus rubeolic, antigen hepatitic B etc. constă în apariția de anticorpi specifici IgA în secreții din nazofaringe, intestin, epiteliu bronhopulmonar, țesuturi oculare externe, glandă mamară, tractul genital extern.

Infecția virală naturală a mucoasei sau aplicarea locală de vaccin viu sînt cei mai eficace inductori de IgA pe mucoase.

Răspunsul în anticorp IgA în nazofaringe și intestin este obținut numai după administrarea *orală* de poliovaccin viu (fig. 280). După inocularea *intranazală* de poliovaccin inactivat se obține un răspuns în IgA exclusiv nazofaringean.

Răspunsul în anticorpi serici, pe de altă parte, este relativ similar atît după vaccinarea orală cu vaccin viu sau parenterală cu vaccin inactivat. (fig. 281 și 282)

Răspuns în anticorp IgA secretor în nazofaringe se obține și după inoculare subcutană de vaccin gripal inactivat sau vaccin rujeolic viu atenuat, ca și după administrarea nazală sau subcutanată de vaccin rubeolic viu RA 27/3.

În concluzie, un răspuns în anticorp viral în sedii secretorii se poate obține cu condiția ca antigenul specific, în cantități optimale, să vină în contact cu țesutul imunocompetent din mucoasă. De regulă, răspunsul este anatomic localizat la teritoriul stimulat de antigen. (Ex. : Vaccinul gripal dat în aerosoli cu diametru mediu de 1,5 μm nu este reținut în căile nazale și ajunge în tractul respirator inferior ; în consecință, răspunsul în IgA nazofaringean lipsește ori este slab, fiind prezent însă la nivelul căilor inferioare. Situația se inversează dacă vaccinul este dat în particule mari, cu diametrul de cca 100 μm.)

În general, vaccinurile vii administrate local dau un răspuns în IgA specific de lungă durată și în titru mare, în contrast cu vaccinurile inactivate.

(ii) *Răspunsul secundar* în IgA secretor este similar cu cel primar sugerînd, ca și pentru IgM, lipsa de memorie imunologică.

c) **Rolul anticorpilor în infecții virale.** Infecțiile naturale cu poartă de intrare pe mucoase sau vaccinarea mucoaselor au drept rezultat, de cele mai multe ori, apariţia de anticorpi serici şi secretori. Rolul principal al răspunsurilor imune mediate de anticorp constă în : (i) limitarea viremiei şi prevenirea bolii (protecţia organului ţintă), (ii) prevenirea reinfecţiei, (iii) prevenirea bolii mucoaselor.

(i) *Anticorpul circulant* rezultat din infecţia naturală, imunizare sau prin administrarea de gamaglobulină specifică joacă un rol deosebit de important în limitarea infecţiilor virale. Vindecarea este precedată de eradicarea viremiei şi s-a sugerat rolul anticorpilor asociat cu activitatea macrofagelor în acest proces.

În infecţia *primară* cu virus gripal, herpetic, vaccinia, vindecarea este în mare măsură mediată de alte mecanisme decît anticorpii circulanţi (de interferon şi alţi factori nespecifici), în timp ce limitarea viremiei şi protecţia organelor susceptibile (cord, SNC) faţă de infecţia sistemică cu enterovirus, togavirus depinde de anticorpul circulant.

Persoanele cu defecte ale limfocitului B, dar cu funcţii intacte ale celulelor T şi ale interferonului, sînt mai expuse la poliomielita paralitică chiar după administrarea de vaccin viu.

Administrarea de cyclofosfamidă (care inhibă răspunsul în anticorpi) la şoareci *adulţi* converteşte infecţia normal bine tolerată cu virus Coxsackie B (enterovirus) în infecţie letală ; efectul letal este anulat prin administrarea de anticorp specific pînă la 15 zile după inocularea virusului.

Eliminarea macrofagelor cu siliciu coloidal (care produce ruptura lizozomilor intracelular şi moartea celulei) la şoarece adult transformă infecţia intravenoasă cu virusul febrei galbene (togavirus), normal bine tolerată, în infecţie letală (encefalită mortală) ; efectul letal este anulat prin inoculare de anticorp specific chiar la 48 ore după virus.

Timectomia neonatală nu măreşte susceptibilitatea şoarecilor la infecţii cu enterovirusuri sau togavirusuri (în contrast cu infecţiile cu herpesvirus şi poxvirus care sînt agravate).

Prezenţa anticorpilor circulanţi este direct asociată cu *rezistenţa la reinfecţie* : imunizarea specifică cu vaccinuri virale are ca urmare declinul marcant în mortalitatea şi morbiditatea prin multe boli virale.

Anticorpii circulanţi însă nu pot proteja şi mucoasele faţă de reinfecţia virală, mai ales dacă nu intervin anticorpii locali secretori.

O altă limitare a eficienţei anticorpilor circulanţi este evidenţiată de apariţia, uneori, a vaccinei gangrenoase progresive la persoane cu defecte a limfocitului T, chiar în prezenţa de nivele adecvate de anticorpi serici.

(ii) *Anticorpul secretor*, IgA, are ca rol limitarea colonizării unui virus la poarta de intrare pe mucoase şi prin aceasta să prevină *reinfecţia mucoaselor*. În infecţiile virale, în care mucoasa este şi organul ţintă, IgA poate *preveni şi boala* ca urmare a reinfecţiei : de exemplu, a mucoasei nazale faţă de reinfecţia cu rhinovirus, virus gripal, paragripal (ca şi faţă de reinfecţia nazală cu poliovaccin) sau a mucoasei gastro-intestinale faţă de poliovirus sălbatec („imunitate alimentară").

Lipsa anticorpilor IgA în secreţii nazale ar explica de ce peste 80% din persoanele vaccinate parenteral cu vaccin viu rubeolic HPV-77 rămîn susceptibile la infecţia pe cale nazală cu virusul sălbatec, deşi răspunsul în anticorp seric este bun şi vaccinarea conferă protecţie faţă de reinfecţia pe cale respiratorie.

La persoane cu deficit în IgA secretor, protecţia mucoaselor este preluată de producţia locală de IgG şi IgM.

d) **Mecanismele neutralizării virusurilor.** Neutralizarea este pierderea infectivităţii virusului cauzată de anticorp.

Mecanismul prin care anticorpul reduce şi anulează infectivitatea virusului este o reacţie complexă, în unele cazuri încă nelămurită, în care intervin trei reactanţi : virusul, serul imun şi celule gazdă. Variaţii a acestor componente influenţează mecanismul neutralizării. Factorii implicaţi sînt (i) tipul de virus folosit, (ii) concentraţiile de virus şi de anticorp puse în prezenţă, (iii) caracterele imunoglobulinei antivirale (specificitate, subclasă, aviditate şi gr. mol.), (iv) prezenţa de complement sau de alt factor accesor neutralizant şi (v) tipul şi caracterele celulelor gazdă folosite pentru testarea infectivităţii.

Există cel puţin trei mecanisme de neutralizare : (i) prin acoperirea suprafeţei virionului, (ii) prin agregarea virionilor, (iii) prin viroliză.

(i) *Neutralizare prin acoperirea suprafeţei virionului.*

In vitro, anticorpul inhibă adsorbţia, penetrarea şi dezvelirea virionului.

Primul timp este legarea anticorpului la suprafaţa virionului, urmat de modificări conformaţionale atît ale moleculei Ig cît şi ale proteinei virale de suprafaţă la care este legat anticorpul, iar rezultatul este neutralizarea. La 37°C procesul are loc foarte rapid.

— Cu anticorpii precoce, obţinuţi în primele două săptămîni de la imunizare şi care au slabă afinitate, neutralizarea este reversibilă (ex. : prin diluare se disociază anticorpul şi conformaţia virală se reconstituie).

— Anticorpii tardivi, apăruţi la cîteva luni după imunizare, avînd afinitate crescută, formează cupluri practic ireversibile în condiţii fiziologice.

Reactivarea unor virusuri neutralizate este însă posibilă (i) la pH scoborît, (ii) în concentraţii saline mari sau (iii) prin tratare cu pepsină, tripsină sau papaină care îndepărtează enzimatic porţiunea Fc a anticorpului, ceea ce duce la recîştigarea parţială a infectivităţii.

Studii cinetice cu virusuri animale demonstrează că (i) este necesară ataşarea a mai multe molecule anticorp înainte ca virionul să fie inactivat şi (ii) complexele virus-anticorp infecţioase pot fi neutralizate prin ser conţinînd anti-imunoglobulină :

(i) virus + anticorp → complex virus—anticorp infecţios;

(ii) complex virus—anticorp + anticorp → virus neutralizat.

Pentru a antrena neutralizarea, anticorpii trebuie să se ataşeze la *sediile critice* de pe suprafaţa virionului, adică la structurile implicate în ataşarea acestuia la receptorii celulei gazdă.

Localizarea, numărul şi dimensiunile ariilor critice de pe suprafaţa virionului influenţează marcant reacţia de neutralizare.

1) Unele virusuri au *un singur sediu critic* şi în acest caz pentru neutralizare este suficientă o singură moleculă anticorp (ex. : placa terminală a cozii fagului T-par).

2) Alte virusuri au *sedii critice multiple* ca, de exemplu, hemaglutininele de pe suprafaţa virusului gripal * şi în asemenea situaţie sînt de regulă nece-

---

* O particulă de virus gripal are pe suprafaţă cca 1 000 de spiculi de hemaglutinină şi 200 de neuraminidază.

sare multiple molecule anticorp (pentru a mări șansele ca molecule Ig să interfereze atașarea). Neuraminidaza nu este implicată în infecție și de aceea anticorpul anti-neuraminidază nu va neutraliza infectivitatea; complexul infecțios virus gripal-antineuraminidază este însă neutralizat prin incubarea în continuare cu ser imun anti-globulinic (moleculele de anti-globulină se combină cu anticorpul antineuraminidază atașat pe suprafața virionului și împiedică steric accesul hemaglutininei la receptor).

Adenovirusurile au, de asemenea sedii critice, multiple reprezentate de fibrele pentonei și de hexone, în consecință neutralizarea este consecința atașării anticorpilor respectivi (anticorpul antipentonă nu este neutralizant).

Și alte virusuri au sedii critice multiple: paramyxovirus, oncornavirus, rhabdovirus, rujeolic etc.

3) La cîteva virusuri, ca de exemplu fagii RNA (*f-2*), virusul mozaicului tutunului, *întreaga suprafață* a virionului, formată din copii multiple a unei singure proteine, *este sediu critic.*

(ii) *Neutralizare prin agregarea virionilor*

Agregarea virionilor ca urmare a reacției cu exces de anticorpi bivalenți (IgG, IgA), dar mai ales multivalenți (IgM), poate antrena neutralizarea, cu condiția ca virionii să se prezinte în reacție sub forma de *suspensie monodispersă* și nu ca agregate de virioni; în această din urmă situație, virionii din centrul agregatelor nu sînt neutralizați („fracțiunea persistentă").

(iii) *Neutralizare prin viroliză*

Factorii accesori în neutralizarea virusului pot fi *naturali*: complementul (*C'*), factorul reumatoid *(FR)* și proteina A stafilococică *(SpA)* sau *induși artificial* la animal: anticorpii anti-imunoglobulină și anti-complement.

Astfel, membrana virusului bronșitei infecțioase aviare (coronavirus) este lezată de sistemul complement și rezultă *viroliză.*

În general, virusurile cu membrană sînt sensibile la viroliza mediată de complement, iar virusurile goale sînt rezistente.

Substanțele accesorii cu mică greutate moleculară, sub 4×10^5, ca de exemplu C_4, C_2, C_3, IgG anti-IgG, SpA determină scăderea infectivității virusurilor, în timp ce substanțe cu mare greutate moleculară (C_1 C_{1q} și factorul reumatoid IgM) au activitate scăzută datorită volumului mare care nu le permite acoperirea de suprafețe mari pe virion.

Factorul reumatoid (FR) apare în circulație la bolnavi cu diferite boli de „colagen vascular" și, de asemenea, în serul din convalescență după infecții virale: gripă, rubeolă, hepatită B, mononucleoză infecțioasă (v. Epstein-Barr), citomegalovirus.

FRIgM este o macroglobulină (g.m. 900 000) care se atașează la porțiunea Fc a anumitor molecule IgG, la fel ca și C_1 sau proteina A.

Datele experimentale arată că FR se atașează la complexele virus-IgG (și nu pe virus singur), care devin astfel mai sensibile la acțiunea complementului.

e) **Distrugerea celulelor infectate cu virus prin anticorp și complement.** *Citoliza mediată de anticorp dependentă de complement* (CMADC) este condiționată de modificările antigenice ale membranei celulelor infectate cu virusuri: anticorpul antiviral se fixează pe antigene virus specifice din membrană și reacția are ca urmare activarea sistemului complement, ceea ce poate rezulta în liza celulei infectate.

— Experimental, procesul are rol în *apărarea antivirală* a gazdei față de : (i) *infecția virală productivă citocidă* dacă intervine în stadiile precoce ale infecției ; întrucît antigenele virale de suprafață apar precoce, mecanismul poate induce moartea celulei în stadii inițiale ale ciclului productiv și prin aceasta să reducă producția de virus progen ;

(ii) *infecția virală necitocidă este* încă mai sensibilă la acest mecanism, datorită persistenței antigenelor virale de suprafață.

— In vivo, fenomenul ar avea rol *în reacțiile inflamatorii* observate în patogeneza infecțiilor virale :

(i) Administrarea de anticorp antiviral la șoareci infectați persistent cu virus CML induce liza celulelor și infiltrație de celule inflamatorii.

(ii) Adaosul de venin de cobra (care inhibă C_3) reduce mortalitatea șoarecilor adulți prin infecția acută cu virus CML.

(iii) Administrarea pasivă de anticorpi față de virusul bolii Aleutine la vizoni infectați cauzează necroza celulelor și modificări inflamatorii similare cu cele de la șoarecele infectat cu virus CML.

(iv) Anticorpi citotoxici pentru celule infectate cu virus fibroma apar după inocularea virusului intradermic la iepure.

— Lezarea celulelor prin acest mecanism imunologic este influențată în primul rînd de natura expresiei antigenelor virale la suprafața celulei :

(i) Infecțiile virale care determină *puține* sedii antigenice pot scăpa atacului imun, deoarece antigenele fiind situate la distanțe prea mari nu permit formarea de dublete cu anticorpii IgG, situație care este necesară pentru activarea secvenței complement ; așa s-ar explica supraviețuirea celulelor persistent infectate cu virus rujeolic, CML, fibroma.

(ii) Condițiile care conduc la *modularea antigenică* a suprafeței celulelor influențează eficiența anticorpului citolitic : „bonetarea" și exfolierea antigenelor virale are ca rezultat inducerea rezistenței la liza imună a celulelor infectate cu virus rujeolic.

— Atașarea necitolitică a anticorpilor antivirali la celule-țintă (cu antigene virale pe membrană) poate declanșa alte efecte imunopatologice, și anume :

(i) Atașarea limfocitelor *normale* prin sediile lor receptor pentru fragmentul Fc al Ig, atașate la rîndul lor prin fragmentul Fab la antigene virale de suprafață, *poate iniția citoliza* mediată celular.

(ii) Invers, în alte situații, anticorpi care nu au efect citolitic asupra celulei țintă, prin atașare la antigene virale, *protejează celula țintă* față de atacul imun mediat celular.

Aceasta ar explica progresul sau recurența tumorii Burkitt la bolnavi în prezența unor nivele ridicate de anticorpi circulanți față de antigene de membrană specifice virusului Epstein-Barr și prezența de celule tumorale E—B învelite cu anticorp specific *(„facilitare imunologică")*.

(iii) Există date care sugerează că atașarea anticorpilor la antigene virale de pe membrana celulei influențează indirect sintezele de DNA și proteine virale, procesul fiind implicat în menținerea infecției persistente cu herpesvirus a celulelor ganglionare și în supresia antigenelor specifice în celule din limfomul Burkitt.

3. RĂSPUNSUL IMUN MEDIAT CELULAR ÎN INFECŢII VIRALE

Mecanismele imunitare mediate celular *(IMC)* sînt *răspunsuri timus-dependente* adaptate în special pentru eliminarea celulelor antigenic alterate sau străine, cum sînt de pildă rejecţia (i) allogrefelor, (ii) celulelor alterate neoplazic şi (iii) celulelor modificate de infecţia virală.

Rolul principal al anticorpului constă în protecţia faţă de infecţie şi, într-o măsură, limitarea difuzării *virusului extracelular*; rolul IMC constă îndeosebi în promovarea vindecării de infecţia virală prin eliminarea sau imitarea *celulelor infectate de virus*. De aceea, răspunsuri IMC (sau reacţiile de sensibilizare de tip întîrziat) sînt prezente în infecţiile cu aproape toate virusurile care induc formare de antigene în membrana citoplasmică a celulelor infectate (ex. : poxvirus, myxovirus, herpesvirus, arenavirus etc.) şi lipsesc ori sînt rareori observate în infecţii cu virusuri care nu se asociază cu membrane ca, de exemplu, picornavirus.

— Rolul IMC în protecţia faţă de virusuri este cu certitudine dovedit atît prin numeroase fapte experimentale, cît şi de observaţii şi studii clinice :

(i) Bolnavii cu IMC deficientă, congenitală sau cîştigată prin boli sau terapie imunosupresivă, indiferent de capacitatea răspunsului în anticorpi, fac infecţii agravate, cu evoluţie recurenţială, sau chiar letale cu herpesvirus, varicela-zoster, citomegalovirus, vaccină, rujeolă, în contrast cu bolnavi prezentînd hipogamaglobulinemie severă, dar cu IMC intactă şi care se vindecă normal de vaccină, rujeolă, varicelă (tabel 119).

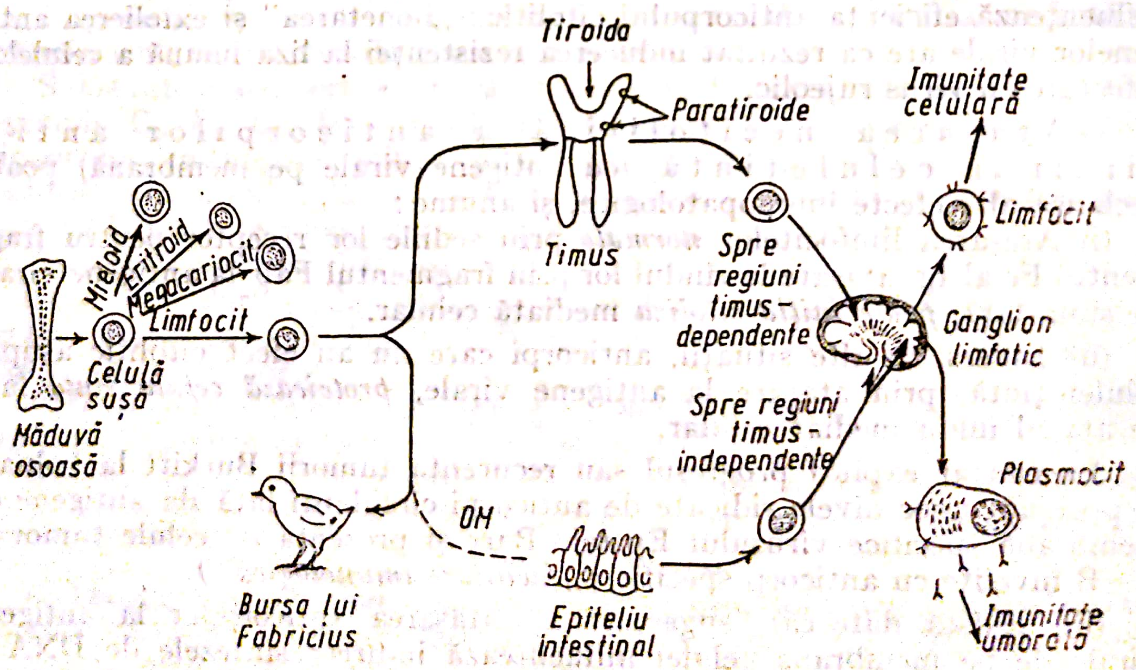

Tiroida
Paratiroide
Imunitate celulară
Mieloid
Eritroid
Megacariocit
Limfocit
Celulă suşă
Măduvă osoasă
Timus
Limfocit
Spre regiuni timus-dependente
Ganglion limfatic
Spre regiuni timus-independente
Plasmocit
OH
Bursa lui Fabricius
Epiteliu intestinal
Imunitate umorală

Fig. 253 **: Reprezentare schematică a ontogeniei reactivităţii imunitare arătînd diferenţierea celulelor progenitori spre celule hematopoietice sau spre celule imunocompetente. (*Bellanti, J.A.*)**

(ii) Timectomia neonatală și/sau serul antilimfocitar agravează infecția cu herpesvirus și poxvirus (în contrast cu infecțiile cu enterovirus sau togavirus care rămîn nemodificate).

(iii) La animale timectomizate neonatal sau cu aplazie timică congenitală („șoarec-nud''), inocularea de celule T imune recoltate de la donator singeneic restaurează răspunsul IMC normal.

(iv) Răspunsul IMC poate fi transferat la animale normale prin celule T imune (prelevate la animal imun), dar nu prin ser imun (ex. : în CML, ectromelie).

Grație studiilor experimentale există astăzi o imagine mult mai clară, deși încă incompletă, despre *celulele* imunocompetente care participă și despre *mecanismele* IMC acționînd în situații naturale.

Tabelul 119

Infecții virale agravate la bolnavi cu diferite tipuri de imunodeficiențe

Imunodeficit*	Infecții virale agravate, recurențiale, uneori fatale
Hipogamaglobulinemie cu IMC ** intactă	poliomielita paralitică
IMC deficientă (cu imunoglobuline scăzute sau normale)	vaccina herpes simplex varicella-zoster citomegalovirus rujeolic hepatita B

* — *Imunodeficiențe congenitale* caracterizate prin IMC defectivă asociată sau nu cu răspuns umoral deficient sînt : ataxia-telangiectazia, displazia timică (agamaglobulinemia tip Swiss), sindrom di George (aplazia timică), sindromul Wiskott-Aldrich, sindrom Gitlin (limfopenie primară), sindrom Nezelof, hipoplazia cartilage-păr (în ultimele două sindroame nivelele de Ig și capacitatea de sinteză a anticorpilor sînt aproape normale).

— *Imunodeficiențe cîștigate* se întîlnesc în leucemie, boala lui Hodgkin, limfoame.

— *Imunosupresia terapeutică* în neoplazii, boala lui Hodgkin sau allogrefa renală are consecințe similare.

** IMC = imunitate mediată celular (timusdependentă).

a) **Fagocitele mononucleare.** *Macrofagele,* celule cu viață lungă diferențiate din precursori prezenți în măduva osoasă, sînt purtătoare pe suprafață de sedii receptor specifice (*receptori Fc—C*) pentru IgG1, IgG3, IgM, și C3, și au funcții generale importante : (i) capacitatea de migrare, (ii) fagocitoză (ingestie de material corpuscular), (iii) pinocitoză (incorporare de molecule, lichide), (iv) citotoxicitate, (v) adezivitate * la sticlă, fibre de nylon sau bumbac.

— În reacții IMC macrofagele sînt celule efector citotoxice antrenate de următorii factori :

(i) *influențarea macrofagului prin limfokine* (mediatori solubili) sintetizate și liberate de către limfocite T activate ;

(ii) *prezența în membrana macrofagului de receptori Fc—C* pentru fragmentul Fc al Ig, ceea ce îi conferă *acces la complexe imune* virus-anticorp, care sînt apoi endocitate și inactivate ;

(iii) *„armarea" macrofagului cu anticorpi citofili* (IgG1, IgG3, IgM, C3) grație receptorilor Fc—C din membrană ceea ce îi conferă o activitate fagocitară citotoxică sau citostatică specifică și sporită față de o varietate de celule-țintă („fagocitoză imună'') ; în cazul virusurilor care replică în macrofag, captarea lor prin acest mecanism poate avea ca rezultat, dimpotrivă, sporirea producției de virus ;

---

* Datorită adezivității macrofagele sînt denumite și *celule A* (aderente).

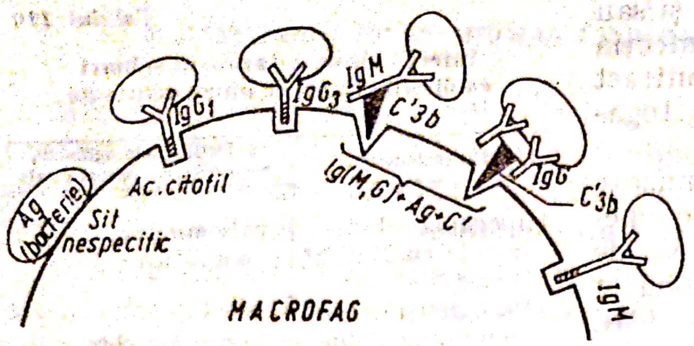

IgG1
IgG3
IgM
C'3b
Ag (bacterie)
Ac.citofil
Sit nespecific
Ig(M,G)+Ag+C'
IgG
C'3b
IgM
MACROFAG

Fig. 254 : Macrofagele au sedii receptor (*Fc-c*) pentru regiunea Fc modificată a Ig G_1, Ig G_3, IgM şi pentru C_3 ca urmare a ataşării Ig la antigen. Rezultat : activarea captării complexelor imune.

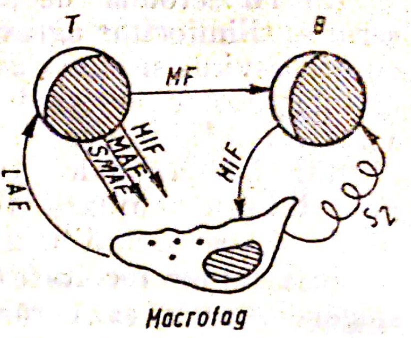

T
B
MF
MIF
MAF
SMAF
MIF
LAF
S2
Macrofag

Fig. 255 : Interacţiunea macrofagelor cu limfocitele T şi B.

MIF = factor de inhibare a migrării macrofagelor ;
MAF = factor de activare a macrofagelor ;
MF = factor mitogen ;
SMAF = factor de armare specifică a macrofagelor ;
LAF = factor de activare a limfocitelor ;
S_2 = al doilea semnal pentru declanşarea diviziunii limfocitelor B.

(iv) *„activarea" imunologic nespecifică a macrofagelor*, de exemplu, prin infecţii cronice (la şoarece) cu Corynebacterium parvum, BCG, Toxoplasma gondii, Listeria monocitogenes, prin inoculare de endotoxină sau LPS *, prin polinucleotide, levamisol, prin transformare virală, prin „factor de creştere" etc. (fenomen denumit *„imunopotenţare"*, în care, simultan cu intensificarea citotoxicităţii specifice faţă de microorganismul imunizant, se produce o sporire a citotoxicităţii faţă de variaţi agenţi neînrudiţi) ; experimental s-a demonstrat că celule peritoneale de iepure au fost capabile să blocheze transferul direct de la celulă la celulă a virusului herpetic în condiţii în care anticorpul singur sau limfocitele specific sensibilizate singure erau ineficace.

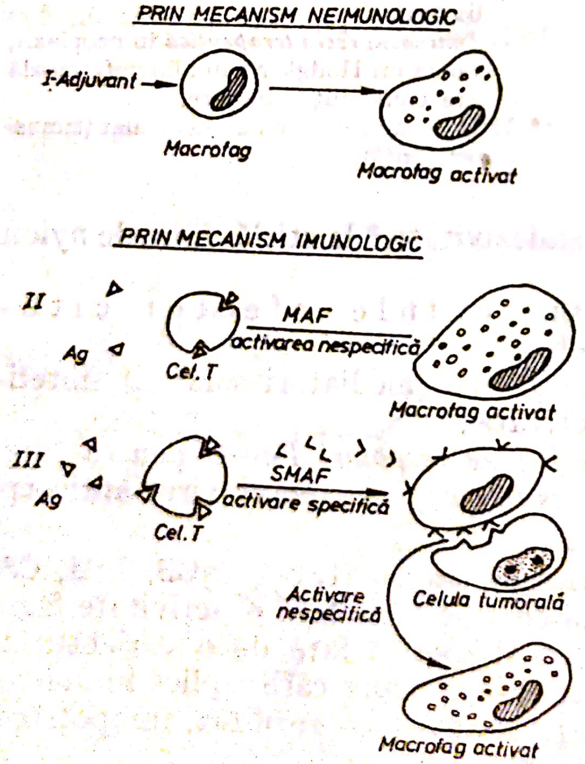

PRIN MECANISM NEIMUNOLOGIC
I-Adjuvant
Macrofag
Macrofag activat
PRIN MECANISM IMUNOLOGIC
II
Ag
Cel. T
MAF
activarea nespecifică
Macrofag activat
III
Ag
Cel. T
SMAF
activare specifică
Celula tumorală
Activare nespecifică
Macrofag activat

Fig. 256 : Modalităţi de activare a macrofagelor. (vezi legenda fig. 255). (*I. Radu*)

Citotoxicitatea („factorul citotoxic macrofagic") este procesul nefagocitar prin care macrofagele *activate* recunosc şi distrug nespecific *in vitro* celule tumorale sau transformate de virus. Macrofagele *activate* demonstrează mobilitate crescută, un număr crescut de mitocondrii şi lizozomi, capacitate crescută de adezivitate, de fagocitoză şi activitate bactericidă.

---

* LPS = lipopolizaharidul din bacterii gram negativ.

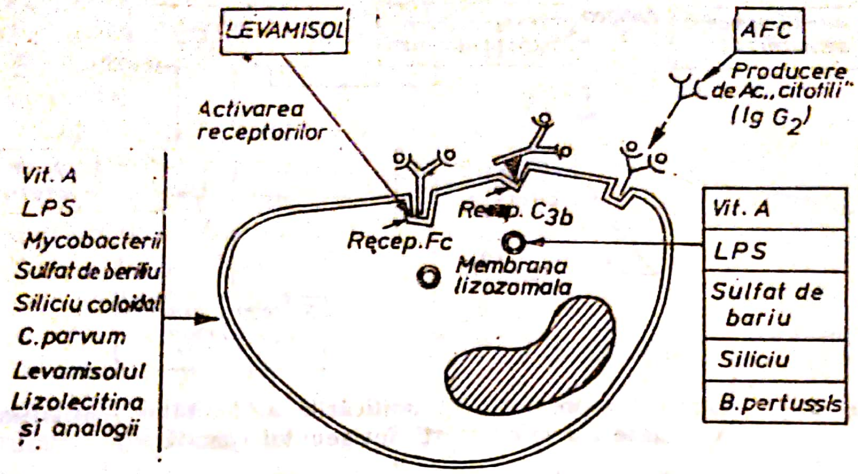

LEVAMISOL
AFC
Producere de Ac. „citofili"
(Ig G2)
Activarea receptorilor
Vit. A
LPS
Mycobacterii
Sulfat de beriliu
Siliciu coloidal
C. parvum
Levamisolul
Lizolecitina și analogii
Recep. Fc
Recep. C3b
Membrana lizozomala
Vit. A
LPS
Sulfat de bariu
Siliciu
B. pertussis

Fig. 257 : Mecanisme neimunologice de activare a macrofagelor de către adjuvanți („imunopotențare").

LPS = lipopolizaharid;
AFC = adjuvant Freund complet (*I. Radu*)

Pe de altă parte, macrofagele (celule aderente) au funcții importante și în stimularea răspunsului în anticorpi de către limfocitele B. Această acțiune este considerată nespecifică și se exercită prin: (i) „prelucrarea" antigenelor incorporate pînă la o stare imunogenă adecvată inclusiv concentrarea antigenelor slab imunogene, (ii) producere de RNA informațional, (iii) eliberare de factori solubili care influențează nespecific normalizînd, intensificînd sau deprimînd unele activități ale limfocitelor T și, posibil, B. (*Normalizează* unilateral răspunsul IMC inhibat *in vitro* de limfocite Tss înalt purificate; *intensifică* răspunsul limfocitelor T la stimularea cu PHA; *deprimă* transformarea blastică a limfocitelor T indusă prin diferiți mitogeni nespecifici.)

Inhibarea diferențiată a funcțiilor macrofagelor este posibilă prin concanavalină A (inhibă migrarea), rifamicină (inhibă citotoxicitatea), glucoză (inhibă adezivitatea), ser anti-macrofage (inhibă fagocitoza) și relevă complexitatea de structură și funcție a acestor celule.

b) **Limfocitele T.** Sînt celule derivate din timus, unde au ajuns din precursori aflați în măduva osoasă, și care colonizează ariile timus-dependente din alte organe limfoide. Se diferențiază prin markeri cromozomali (alloantigene) prezenți numai pe celule T (ca, de exemplu, antigenul *thy* (θ) pe limfocitul T la șoarece).

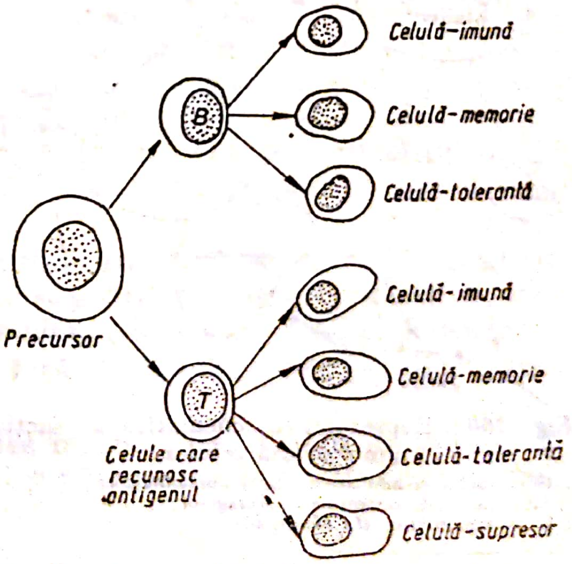

Celulă-imună
B
Celulă-memorie
Celulă-tolerantă
Precursor
Celulă-imună
Celulă-memorie
T
Celulă-tolerantă
Celule care recunosc antigenul
Celulă-supresor

Fig. 258 : Subpopulații funcționale de limfocite B și T, diferențiate ca urmare a recunoașterii antigenului, prin care se mediază și reglează diferite procese și reacții imune.

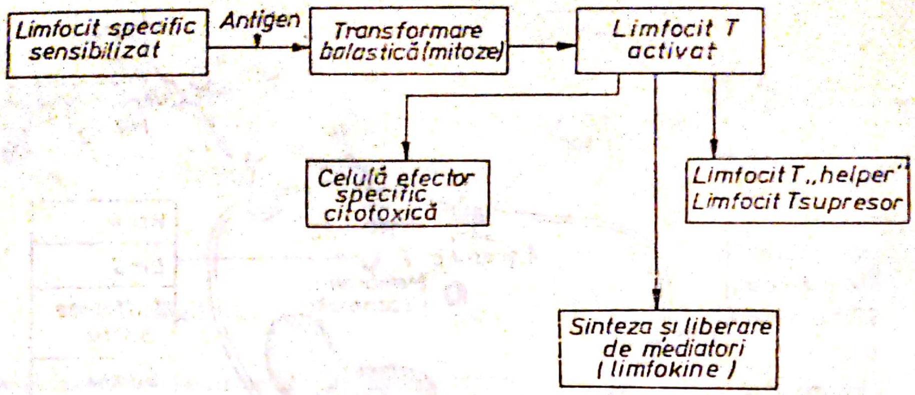

Limfocit specific sensibilizat
Antigen
Transformare balastică (mitoze)
Limfocit T activat
Celulă efector specific citotoxică
Limfocit T „helper”
Limfocit T supresor
Sinteza și liberare de mediatori (limfokine)

Fig. 259: Diagramă reprezentînd modificările limfocitului sensibilizat ca urmare a recunoașterii antigenului specific.

Mediază și reglează diferite procese și reacții imune prin intermediul *subpopulațiilor funcționale de celule T*, și anume:

(i) *supravegherea imunologică* de lungă durată; *(T-memorie)*;

(ii) *cooperarea cu limfocite B* în producerea de anticorpi față de antigene timus-dependente * *(celule Tc,* cooperante; *T-helper)*;

(iii) *au rol regulator al răspunsului imun* celular și umoral al altor celule imunocompetente (celule T-suppressor, *celule Ts*);

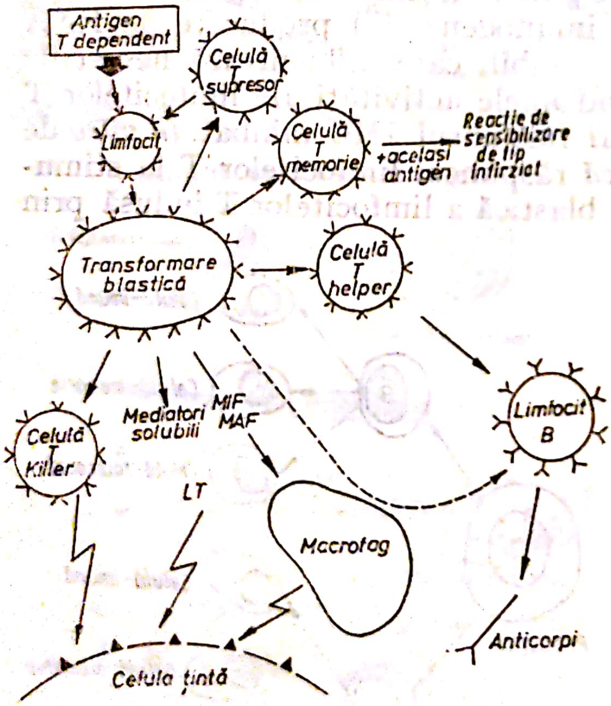

Antigen T dependent
Celulă T supresor
Limfocit
Celulă T memorie
+același antigen
Reacție de sensibilizare de tip întîrziat
Transformare blastică
Celulă T helper
Celulă T Killer
Mediatori solubili
MIF
MAF
LT
Macrofag
Limfocit B
Anticorpi
Celula țintă

Fig. 260: Reprezentare schematică a reacției imune mediată celular.

MIF = factor de inhibare a migrării macrofagelor;
MAF = factor de activare a macrofagelor;
LT = limfotoxina. (*Le Mevel, B.*)

(iv) activitate prin interacțiunea cu antigenul specific, sintetizează și elaborează factori solubili (limfokine) mediatori ai reacției IMC;

(v) exercită funcții de *celule efector citotoxice* în reacții IMC *(celule T-killer* sau *celule K)*; *citoliza mediată de celule dependentă de anticorp (CMCDA)* este efectuată de celule nule (K) sau celule B în prezența anticorpului solubil circulant și poate fi mediată de complement și activarea macrofagelor.

Pentru inducerea răspunsului imun primar față de antigene virale timus-dependente este necesară *cooperarea T—B*, proces care s-ar efectua (i) fie *indirect*, prin factori solubili liberați de limfocitul T activat de contactul cu antigen, (ii) fie prin *cooperare directă*, în care limfocitul Tc „concentrează" pe suprafață antigenul și îl „prezintă" limfocitelor B care sînt astfel activate.

---

* *Antigene timus-dependente* sînt antigenele care necesită prezența celulelor Tc și cooperarea T-B pentru a determina răspunsul în anticorpi (de exemplu eritrocite heterologe, proteine serice, conjugate hapten-proteină, fagi, virusuri animale) în contrast cu *antigene timus-independente* care stimulează direct limfocitele B pentru sinteză de anticorpi (de exemplu: polizaharidul pneumococic, flagelina polimerizată, lipopolizaharidul de E. coli).

Celulele K sînt limfocitele active citotoxic, derivate prin diferențiere din celule nespecificate și inactive, *T-nule („null cells")*. În faza inițială de ucidere a celulelor-țintă intervin *celule K precoce* (limfocit mare, blastoid) și care, prin maturare, devin *celule K mature* (limfocite mijlocii dar mai ales mici, palide), ucigașe foarte active.

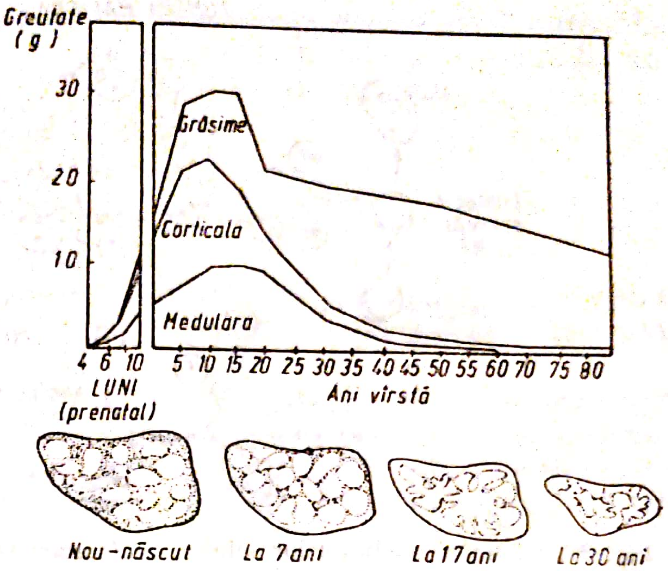


Fig. 261 : Reprezentare schematică a modificărilor de greutate și compoziție a timusului în funcție de vîrstă (vezi și nota de subsol la pag. 797). (*Bellanti, J.A.*)

Celulele Ts, cu rol modulator al răspunsului imun, sînt prezente în splină, timus, măduvă osoasă, sînge, apendice, plăci Peyer și sînt puternic aderente. *Se înmulțesc numeric* după (i) timectomie la adult și (ii) la 15—20 zile după administrarea de corticosteroizi și, invers, *diminuă numeric* la animale bătrîne *, de aceea, se pare, joacă un rol cheie în modificările imunologice care survin prin îmbătrînire, în unele boli virale ca, de pildă, boala lui Marek la găini și în anumite forme de hipogamaglobulinemie.

Celulele Ts suprimă reacția grefă-*versus*-gazdă, induc toleranța față de transplante incompatibile și induc lipsa de reactivitate față de tumori.

— Limfokine

După ce recunosc antigenul specific, limfocitele T „se transformă" *in vitro*; citoplasma se mărește, nucleul se relaxează, încep sintezele DNA și de proteine, și celulele intră parțial în mitoză. Această transformare din limfocite mici în limfoblaști se produce în interval de 4—7 zile (reacție „întîrziată") și este corelată cu apariția *in vivo* a „celulelor mari pironinofile" în zonele paracorticale din ganglionii limfatici regionali în cursul rejetării transplantului.

Populația de limfocite specific sensibilizate sau limfocite T activate realizată prin transformare blastică este capabilă să întreprindă și să execute acțiuni multiple în evenimentele complexe ale reacției IMC și în deosebi :

(i) rol de celulă efector citotoxică față de celulele străine din transplant sau tumoră;

(ii) sinteza și eliberarea de numeroase molecule cu funcții de mediatori solubili ai IMC care, difuzînd la distanță și pătrunzînd în țesuturi, amplifică considerabil reactivitatea IMC.

---

* Celule splenice de *șobolan tînăr* care răspund relativ slab la doze optimale sau supraoptimale de fitohemaglutinină (PHA) pot fi făcute semnificativ reactive prin îndepărtarea celulelor aderente Ts; celulele splenice de *șobolan bătrîn* răspund de la început la PHA prin valori ridicate a ratei de încorporare de ^{3}H-timidină.

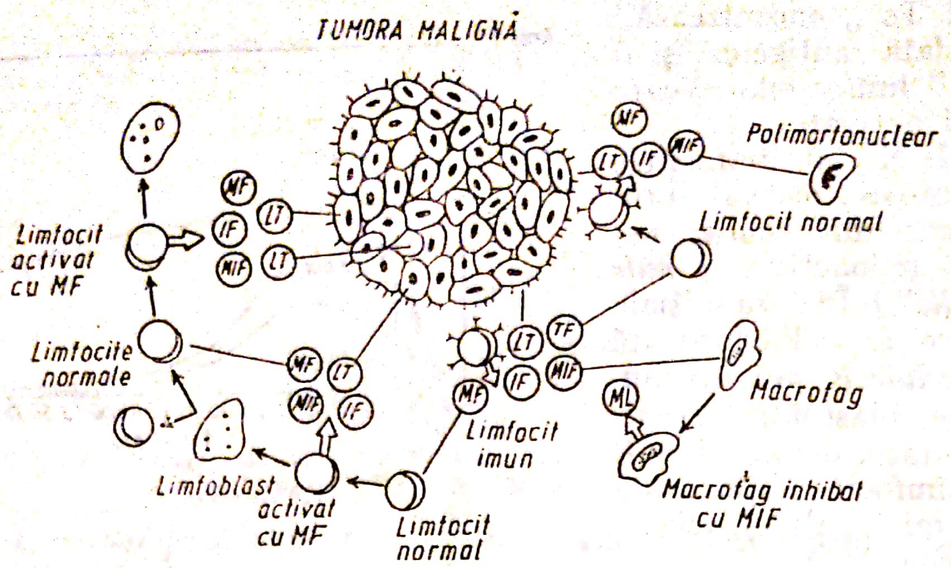


Fig. 262 : Efectul mediatorilor solubili limfocitari asupra tumorii maligne. *(Makler, B.F).*

MF = factor mitogen;
IF = factor inflamator;
LT = limfotoxina;
MIF = factor de inhibare a migrării;
ML = macrolizina;
TF = factor de transfer.

Produșii de activare a limfocitelor sau limfokine, cu unele excepții, sînt doar în mică măsură caracterizați biochimic.

Descrierile de mediatori solubili limfocitari sînt făcute doar *pe baza diferitelor activități* evidențiate în diferite sisteme experimentale:

(i) *Mediatori activi asupra macrofagelor:*

— factor de inhibare a macrofagelor *(MIF)*; poate fi extras din limfocite activate, are gr. mol. aproximativ 10 000, suprimă migrarea in vitro a macrofagelor normale; injectat intradermic determină o reacție inflamatorie prin reținerea macrofagelor la sediul inoculării.

— factor de activare a macrofagelor *(MAF)*; stimulează in vitro macrofage care devin mai active morfologic și mai aderente la suprafețe;

— factor de armare specifică a macrofagelor *(SMAF)*; anticorpii citofili pot fi produși de celule formatoare de anticorp și se atașează, cu fragmentul Fc, la receptori din membrana macrofagelor care devin astfel celule reactive specific la antigen;

— factori chemotactici; sînt identificați trei: unul produs de limfocitul sensibilizat la contact cu antigenul, al doilea prezent în lizate de leucocite polimorfonucleare și al treilea este generat în ser de complexe antigen-anticorp; atrag macrofagele în aria unde sînt eliberați;

— factorul de agregare *(AF)*; eliberat de limfocite sensibilizate, produce aderența limfocitelor la macrofage sau a macrofagelor la macrofage, proces care este anulat prin adaosul de MIF;

(ii) *Mediatori activi asupra limfocitelor:*

— factor mitogen *(MF)*; este eliberat de limfocite sensibilizate la contact cu antigenul și determină *in vitro* transformarea blastică a limfocitelor normale urmată de mitoză;

— factor de activare a limfocitelor *(LAF)*; posibil, este aceeași substanță ca MF;

— factor de transfer *(TF)*; a fost pus în evidenţă deocamdată numai la om în limfocite sensibilizate, are gr. mol. în jur de 10 000 şi injectat la un animal normal induce starea de sensibilizare de tip întîrziat;

(iii) *Mediatori activi asupra granulocitelor:*

— factor de stimulare a eozinofilelor;

— factor de imobilizare a neutrofilelor;

— factor chemotactic granulocitar.

(iv) *Limfotoxina (LT)* este eliberată de limfocite sensibilizate la contact cu antigenul, are caractere de proteină, gr. mol. cca 85 000 şi determină distrucţia *in vitro* a celulei-ţintă.

(v) *Factorul de permeabilitate (PF)*; poate fi extras atît din limfocite sensibilizate cît şi nesensibilizate, determină creşterea permeabilităţii vasculare, este prezent în zonele cutanate, sedii ale reacţiei de hipersensibilizare tip întîrziat; antiserul faţă de acest factor deprimă reacţia cutanată de tip întîrziat.

(vi) *Interferonul*, factor neimunitar care inhibă replicarea virusurilor (vezi cap. VII).

(vii) *Factorul de inhibare a proliferării (PIF)*; este prezent în supernatantul culturilor de limfocite stimulate cu antigen, inhibă *in vitro* fără însă să ucidă celule ne-limfoide.

— Testele „in vitro" pentru evaluarea IMC sînt (i) testul de transformare blastică a limfocitelor (TTL), (ii) testul de inhibare a migrării macrofagelor (TIMM), (iii) testul de mobilitate electroforetică şi (iv) testul de limfocitotoxicitate (în absenţa de ser şi complement).

Primele două teste sînt cele mai utilizate.

Deşi transformarea blastică are loc atît pentru celule T cît şi B, dacă se folosesc antigene virale specifice adecvate, aceste teste reflectă destul de corect funcţia limfocitelor T.

Trebuie subliniat că mărimea răspunsului obţinut *in vitro* în aceste teste nu poate fi luată drept o expresie a intensităţii răspunsului celulelor T *in vivo*.

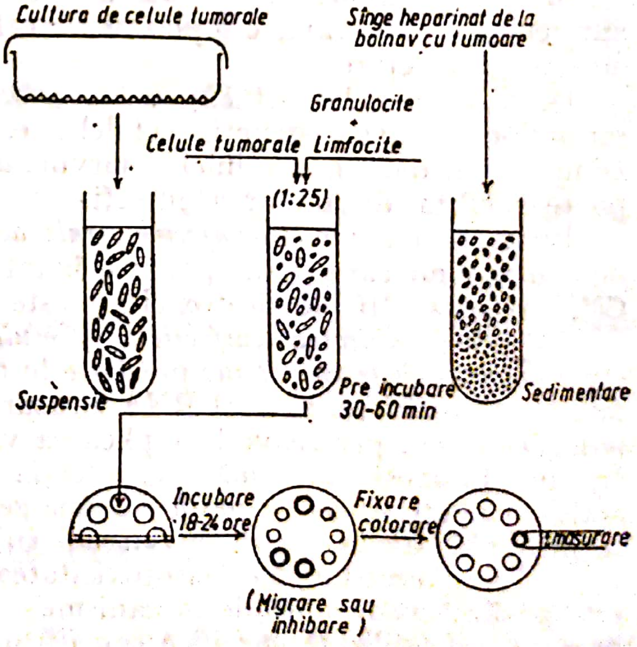


Fig. 263: Schema reacţiei de inhibare *in vitro* a migrării macrofagelor (metoda în gel de agaroză).
În exemplu, drept antigen se folosesc celule tumorale intacte pentru a se testa capacitatea limfocitelor unui bolnav de a recunoaşte antigene TSTA (antigene tumorale specifice de suprafaţă).

— Rolul posibil *in vivo* al interacţiunii mediatorilor limfocitari în reacţiile de hipersensibilizare ar consta de exemplu în: (i) Eliberarea de către limfocitul sensibilizat, după contact cu antigenul, a factorului de inhibare a migrării (MIF), a factorilor chemotactici, a factorului de activare a macrofagelor

(MAF) care atrag și rețin macrofage la sediul reacției. (ii) Numărul celulelor specific sensibilizate poate fi crescut considerabil prin recrutarea cu factor de transfer (TF) și factor de armare specifică (SMAF) care conferă celulelor anterior neutre capacitatea de a recunoaște specific antigenul și, de asemenea, numărul crește prin factor mitogen (MF) care induce proliferarea limfocitelor. (iii) Activitatea citotoxică prin limfotoxină (LT) în aria reactivă determină moartea celulelor-țintă, proces facilitat de factorul de inhibare a proliferării (PIF) celulelor nelimfoide și de factorul de permeabilitate (PF) care mărește aria inflamată prin acumularea de mai multe celule reactive.

Datorită greutății moleculare reduse, mediatorii solubili pot difuza în zone tisulare (ex. : în tumoră) unde anticorpii și mai ales celule specific sensibilizate nu pot pătrunde (fig. 262).

c) **Mecanismele IMC față de virusuri.**

— Se descriu trei mecanisme generale cu efecte diferite:

(i) *Activarea limfocitelor.* Interacțiunea limfocitelor imune (specific sensibilizate) cu antigene virale este urmată de transformare blastică cu secreție de *limfokine* dintre care unele sînt cu rol potențial de inducere a rezistenței antivirale ca, de exemplu, *interferonul, factorul chemotactic macrofagic, factorul de inhibare a migrării macrofagelor* etc.

Activarea limfocitelor, ca urmare a contactului cu *virioni* sau antigene virale solubilizate și secreție de factor de inhibare (MIF) a fost descrisă în variate sisteme virale *, folosindu-se leucocite din sînge periferic, celule splenice sau din ganglioni de la om sau animale. Puritatea antigenului viral folosit, structural sau de membrană, este foarte importantă pentru evidențierea unei reactivități IMC specifice.

(ii) *Distrucția mediată celular* a celulelor infectate cu virusuri care induc antigene în membrana citoplasmică : celulele infectate sînt recunoscute ca străine și rejectate.

Dacă antigenele sînt exprimate precoce, adică *înainte* de asamblarea virionilor, atunci distrucția celulelor este însoțită de limitarea infecției. Dimpotrivă, dacă liza celulelor survine *după* maturarea virionilor, procesul poate facilita diseminarea infecției.

Pe de altă parte, în *infecții virale acute* citotoxicitatea mediată celular are rol în vindecare și, dimpotrivă, în infecții virale *cronice* (ca, de exemplu, CML) reacția IMC de citotoxicitate este cauza majoră de producere a bolii.

(iii) *Permisivitatea limfocitelor stimulate.* În unele sisteme virale, *limfocitele și monocitele în repaus* prezente în circulație la adult sînt ne-permisive față de virusuri (în special RNA virusuri), în timp ce *limfocitele activate cu mitogeni* devin permisive la replicarea virusului și se poate produce boala. În plus, în acest din urmă caz, infecția cu virusuri citolitice a limfocitelor activate poate duce la imunosupresie generalizată sau localizată, așa cum se întîmplă, de exemplu, cu virusul rujeolic.

— În concluzie, citotoxicitatea mediată de celule limfoide (CMC) este posibilă prin multiple mecanisme : celulele T pot să ucidă celule-țintă după (i) sensibilizare specifică sau (ii) după activare cu mitogen. Uciderea celulei poate avea loc (i) prin contact direct, (ii) prin eliberare de factori citotoxici sau (iii) prin recrutarea de macrofage. Citoliza mediată de celule dependentă de anticorp *(CMCDA)* este efectuată de celule T-nule (K) sau celule B în prezența anticorpului circulant (solubil) și poate fi mediată de complement și activarea macrofagului. Deoarece anticorpul poate ucide celule-țintă în absența limfocitelor efector și complexele anticorp-antigen pot fi citotoxice pentru celule-țintă, rolul celulelor limfoide în citotoxicitatea dependentă de anticorp este dificil de evaluat separat.

---

* Vaccină, herpes, varicela-zoster, citomegalovirus, gripal, Sendai, oreion, rujeolă, PESS, rubeolă, Sindbis, VEE, Vest Nil, CML, adenovirus, hepatită tip B etc.

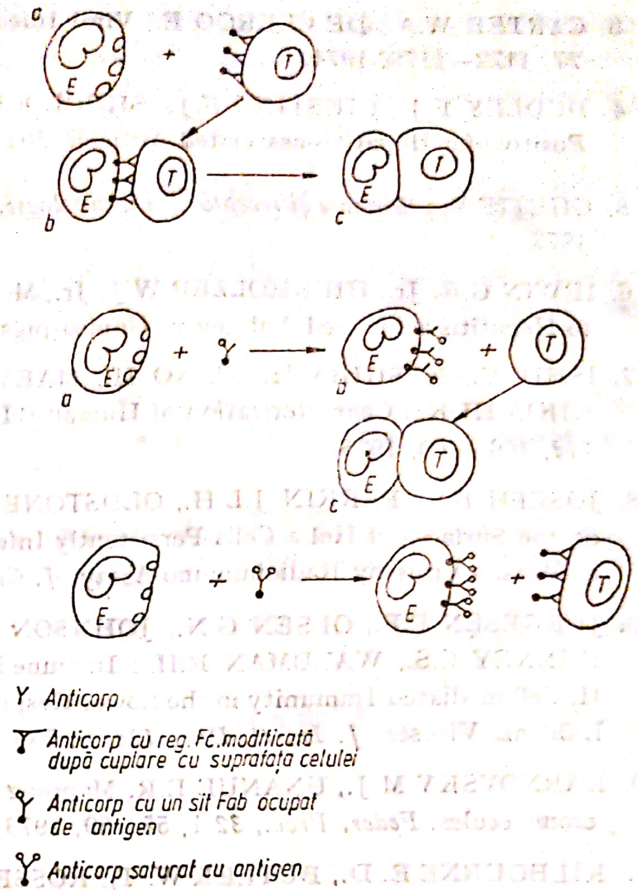

c
E
T
b
c
a
b
c
E
T
Y Anticorp
Anticorp cu reg. Fc. modificată după cuplare cu suprafața celulei
Anticorp cu un sit Fab ocupat de antigen
Anticorp saturat cu antigen

Fig. 264: Caracteristicile reacției citotoxice mediată celular-dependentă de anticorp (CMCDA).
Sus: Anticorpul Y se atașează la celula țintă T (*a*) și suferă o modificare a regiunii Fc (simbolizată prin buton). Celula efector E, care are receptori pentru regiunea Fc modificată, se atașează la celula țintă T (*b*) și, după realizarea unui contact intim pe suprafață mare (*c*), o lizează.
Mijloc: Complexe antigen-anticorp cu exces de anticorp (*a*) se pot atașa la celula efector E (*b*) care devine astfel capabilă să ucidă specific celula țintă T (*c*) care poartă pe suprafață același antigen.
Jos: Complexele imune cu exces de antigen specific (sau neînrudit) ori IgG agregate blochează reacția citotoxică chiar dacă celule țintă au atașat anticorp. (*Allison, A.C.*)

— Rezultă, pe de altă parte, că răspunsurile IMC, ca dealtfel și acelea mediate umoral, declanșate în infecții virale pot fi, după caz, favorabile sau nefavorabile gazdei. În consecință, manipularea agenților imunosupresivi sau imunopotențiatori în infecții virale acute sau cronice obligă la cunoașterea în prealabil atît a modelului patogenetic al infecției, cît și a stării și stadiului de reactivitate imunopatogenetică a bolnavului pentru a se interveni numai *dacă* este necesar, folosind agentul riguros indicat, în momentul și numai atîta timp cît este necesar, astfel încît să se obțină vindecarea sau/și o rezistență antivirală crescută.

BIBLIOGRAFIE

1. ADA G.L., JACKSON D.C., BLANDEN R.V., THA HLA R., BOWERN N.A.: Changes in the Surface of Virus-Infected Cells Recognized by Cytotoxic T Cells. I. Minimal Requirements for Lysis of Ectromelia-Infected P—815 Cells. *Scand. J. Immunol.*, *5*, 23, 1976.
2. BROWN G., GREAVES M.F.: Cell Surface Markers for Human T and B Lymphocytes. *Eur. J. Immunol.*, *4*, 4, 302, 1974.

3. CARTER W.A., DE CLERCQ E., Viral Infection and Host Defense. *Science*, *186*, Dec. 27, 1172—1178, 1974.

4. DUDLEY F.J., GIUSTINO F.J., SHERLOCK S.: Cell-mediated Immunity in Patients Positive for Hepatitis-associated Antigen. *Brit. Med. J.*, *4*, 754—756, 1972.

5. GHEŢIE V.: *Semnale şi receptori în imunologie*. Ed. ştiinţifică şi enciclopedică, Bucureşti 1977.

6. IRWIN G.R. Jr., HIERHOLZER W.J. Jr., McCOLLUM R.W.: Delayed Hypersensitivity to Hepatitis-associated Antigen in Guinea-pigs. *J. Infect. Dis.*, *125*, 73—76, 1972.

7. ISHII Y., KOSHIBA H., UENO H., MAEYAMA I., TAKAMI Y., ISHIBASHI F., KIKUCHI K.: Characterization of Human B lymphocyte Specific Antigens. *J. Immunol.*, *114*, 466—469, 1975.

8. JOSEPH B.S., PERRIN J.L.H., OLDSTONE M.B.A.: Measurement of Virus Antigens on the Surfaces of HeLa Cells Persistently Infected with Wild Type and Vaccine Strains of Measles Virus by Radioimmuno-Assay. *J. Gen. Virol.*, *30*, 3, 329—337, 1976.

9. JURGESEN P.F., OLSEN G.N., JOHNSON J.E., SWENSON E.W., AYOUB E.M., HENNEY C.S., WALDMAN R.H.: Immune Response of the Human Respiratory Tract. II. Cell-mediated Immunity in the Lower Respiratory Tract to Tuberculin and Mumps and Influenza Viruses. *J. Infect. Dis.*, *128*, 6, 730—735, 1973.

10. KARNOVSKY M.J., UNANUE E.R. Mapping and Migration of Lymphocyte Surface Macromolecules. *Feder. Proc.*, *32* 1, 55—59, 1973.

11. KILBOURNE E. D., BUTLER W. T., ROSSEN R. D., Specific Immunity in Influenza. Summary of Influenza Workshop III. *J. Infect. Dis.*, *127*, 220—236, 1973.

12. LAGRANGE P.H, MACKANESS G.B., MILLER T.E.: Influence of Dose and Route o Antigen Injection on the Immunological Induction of T Cells. *J. exp. Med.*, *139*, 528, 1974.

13. MACKANESS, G.B.: Cellular Immunity. *Ann. Inst. Pasteur*, Paris, *120*, 428, 1971.

14. MARX J.L.: Suppressor T Cells: Role in Immune Regulation. *Science*, *188*, 245—247, 1975.

15. MATTER A., SIMPSON E.: The Differentiation of Cytotoxic T Lymphocytes *in vitro*. An Ultrastructural Study. *Cell. Tiss. Res.*, *166*, 475—488, 1976.

16. MINAGAWA T., SAKUMA T., KUWAJIMA S., YAMAMOTO T.K., IIDA H.: Characterization of Measles Viruses in Establishment of Persistent Infections in Human Lymphoid Cell Line. *J. Gen. Virol.*, *33*, 361—379, 1976.

17. NATVIG J.B., KUNKAL H.G.: Human Immunoglobulins: Classes, Subclasses, Genetic variants, and Idiotypes. *Adv. Immunol.*, *16*, 1, 1973.

18. PIERCE C.W., ASOFSKY R., SOLLIDAY S.M.: Immunoglobulin Receptors on B Lymphocytes: Shifts in Immunoglobulin Class During Immune Response. *Feder. Proc.*, *32*, 1,41—43, 1973.

19. RAFF M.C.: T and B Lymphocytes and Immune Responses. *Nature*, *242*, 19—23, 1973.

20. RAFF M.C., DE PETRIS S.: Movement of Lymphocyte Surface Receptors: the Fluid Nature of The Lymphocyte Plasma Membrane and Its Immunological Significance. *Feder. Proc.*, *32*, 1, 48—54, 1973.

21. ROLA-PLESZCZYNSKI M., VINCENT M.M., HENSEN S.A., WALSER J., GRAWFORD M., BELLANTI J.A., 51 Chromium Release Microassay Tehnique for Cell-Mediated Immunity to Mumps Virus : Correlation with Humoral and Delayed-Type Skin Hypersensitivity Responses. *J. Infect. Dis.*, *134*, 6, 546—551, 1976.

22. RUTTER G., MANWEILER K. : Antibody-induced Redistribution of Virus Antigens on the Surface of Influenza Virus-infected Cells. *J. gen. Virol.*, *33*, 2, 321—332, 1976.

23. SHORE S., NAHMIAS A., STARR S., WOOD P., McFARLIN D. : Detection of Cell-dependent Cytotoxic Antibody to Cells Infected with Herpes Simplex Virus. *Nature*, *251*, 350, 1974.

24. TAYLOR R.B., DUFFUS W.P., RAFF M.C., DE PETRIS S. : Redistribution and Pinocytosis of Lymphocyte Surface Immunoglobulin Molecules Induced by Anti-Immunoglobulin Antibody. *Nature New Biol.*, *233*, 225—229, 1971.

25. UHR J.W., VITETTA E. : Synthesis, Biochemistry and Dynamics of Cell Surface Immunoglobulin on Lymphocytes. *Feder. Proc.*, *32*, 1, 35—40, 1973.

26. UNANUE E.R., ENGERS H.D., KARNOVSKY M.J. : Antigen Receptors on Lymphocytes. *Feder. Proc.*, *32*, 1, 44—47, 1973.

27. WIKTOR S.J., KUWERT E., KOPROWSKI H. : Immunolysis of Rabies Virus-infected Cells. *J. Immunol.*, *101*, 1271—1282, 1968.

XLVII. IMUNOPATOLOGIA INFECȚIILOR VIRALE

Reacțiile imune, umorale și celulare, joacă un rol important în apărarea gazdei față de agenții infectanți : anticorpii sînt în general operanți față de bacterii și produsele bacteriene în timp ce reactivitatea celulară este mijlocul de apărare predominant față de unele virusuri și agenți mycotici.

În unele circumstanțe, puse în evidență din ce în ce mai clar, reacțiile imune ale gazdei inițiază sau agravează leziunile tisulare, produc boala.

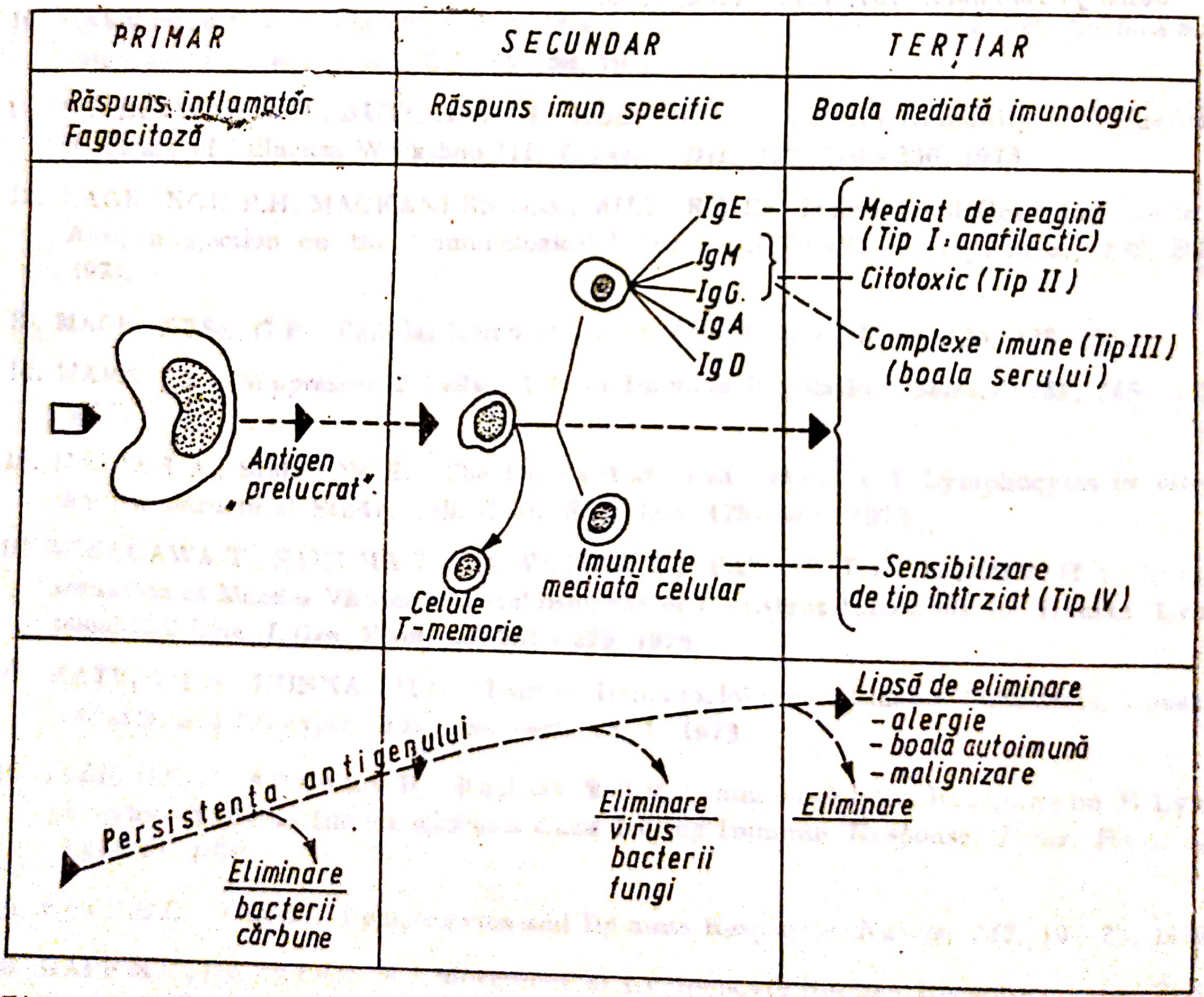

PRIMAR
SECUNDAR
TERȚIAR
Răspuns inflamator
Fagocitoză
Răspuns imun specific
Boala mediată imunologic
IgE
IgM
IgG
IgA
IgD
Mediat de reagină (Tip I: anafilactic)
Citotoxic (Tip II)
Complexe imune (Tip III) (boala serului)
Antigen „prelucrat"
Celule T-memorie
Imunitate mediată celular
Sensibilizare de tip întîrziat (Tip IV)
Lipsă de eliminare
- alergie
- boală autoimună
- malignizare
Eliminare
Persistența antigenului
Eliminare
bacterii
cărbune
Eliminare
virus
bacterii
fungi

Fig. 265 : Reprezentare schematică a capacității totală de reacție imunologică a gazdei, bazată pe eficiența eliminării substanței străine („non-self"). (*Bellanti, J.A.*)

Efectul distructiv al reacţiilor imune, denumit *alergie* sau *hipersensibilizare*, se produce prin unul sau o combinaţie din cele patru[*] mari clase de reacţii imunitare (vezi cap. XX p I) : (i) *reacţii citotoxice — citolitice* mediate de anticorpi faţă de celule infectate (ii) *reacţii atopice sau anafilactice*, mediate de celule sensibilizate cu anticorp reaginic faţă de antigene specifice, (iii) *reacţii datorate complexelor imune toxice* formate din anticorp şi antigen viral şi (iv) *reacţii de hipersensibilizare de tip întîrziat* mediată de celule efector faţă de celule gazdă infectate.

În plus, (i) virusurile pot participa la instituirea de *reacţii autoimune*[**] datorită relaţiilor strînse între antigene virale şi antigene gazdă şi (ii) pot produce stări de *imunodepresie* sau, invers, *imunostimulare* ca urmare a infectării celulelor din sistemul imunocompetent.

A. REACŢII IMUNOPATOGENICE ÎN INFECŢII VIRALE

1. REACŢII (CITOTOXIC-CITOLITICE) MEDIATE DE ANTICORP CIRCULANT

Odată ce s-a instituit infecţia, replicarea virusului furnizează o cantitate crescîndă de antigene virale care determină un răspuns imun specific din partea gazdei. Anticorpii apar faţă de (i) componente virale structurale, (ii) componente celulare alterate sau demascate şi (iii) antigene noi induse de infecţia virală.

Anticorpul antiviral împreună cu complementul pot leza celulele infectate şi pe a căror membrană apar antigene noi induse de virus sau componente gazdă alterate sau demascate de infecţia virală.

Gradul de lezare imunologică a celulei este influenţat de numeroşi factori dintre care o importanţă deosebită au (i) densitatea antigenelor virale pe suprafaţa celulei infectată, (ii) concentraţia şi natura anticorpului antiviral (în special, capacitatea acestuia de a fixa complement), (iii) susceptibilitatea celulei la liza prin complement.

Fiecare dintre aceştia prezintă variaţii cantitative în cursul infecţiei virale iar producerea efectului imunopatologic presupune întrunirea unor raporturi cantitative optimale. De exemplu, dacă sînt puţine sedii antigenice ori acestea sînt prea larg distanţate pe suprafaţa celulei, distrucţia mediată de anticorpi poate să nu se producă. Invers, densitatea crescută de antigene virale măreşte şansele de formare de dublete cu anticorpii IgG şi prin aceasta se măreşte cantitatea de distrucţie celulară.

Fluctuaţii în densitatea şi distribuţia antigenelor virale (modularea antigenică) joacă un rol important în patogeneza infecţiilor virale.

Ataşarea anticorpului antiviral pe suprafaţa celulei infectate este urmată de o modificare a fragmentului Fc care facilitează uciderea sau fagocitoza de către celule efector, limfocite sau macrofage nesensibilizate.

---

[*] Unii autori diferenţiază încă două mecanisme imunitare care pot produce leziuni : (i) neutralizarea sau inactivarea de către anticorp a molecule biologic active (ex. : enzime, hormoni) şi (ii) reacţia granulomatoasă, diferenţiată de sensibilizarea de tip întîrziat.

[**] Termenul „autoalergie" este preferabil pentru indicarea fenomenelor uzual denumite „autoimune".

Pe de altă parte, anticorpul antiviral sau complexe antigen-anticorp cu exces de anticorp pot împiedica limfocite sensibilizate de a recunoaște sau reacționa cu antigene virale și în acest fel să inhibe un răspuns mediat de celule. În infecții virale acest rezultat corespunde efectului anticorpilor blocanți sau intensificării imunologice care facilitează persistența virusului în țesuturi.

În general, acest mecanism are mai curînd rol de apărare în special în infecții cu virusuri care se sustrag acțiunii neutralizante a anticorpului circulant prin transfer direct de la celulă la celulă (ex. : herpesvirus).

2. REACȚII IMUNOPATOLOGICE PRIN COMPLEXE IMUNE ÎN INFECȚII VIRALE

Antigene virale structurale sau nestructurale pot forma complexe solubile cu anticorpul corespunzător. Anticorpii față de antigene virale de înveliș (ex. : hemaglutinina virusului rujeolic) în general protejează gazda prin inactivarea sau neutralizarea virusului în timp ce anticorpi față de antigene virale structurale interne sînt ineficienți pentru protecție în schimb pot forma complexe imune dăunătoare gazdei ca de pildă anticorpii față de nucleocapsida virusului rujeolic sau anticorpii fixatori de complement față de virusul CLM.

Unele virusuri ca de exemplu oncornavirus, virusul bronșitei infecțioase aviare, virusul gripal sau rubeolic, după ce atașează anticorp pe suprafață, complementul poate liza virionul (atacînd componenta lipidică a membranei) și pune în libertate antigene virale interne care pot astfel determina răspunsuri imune.

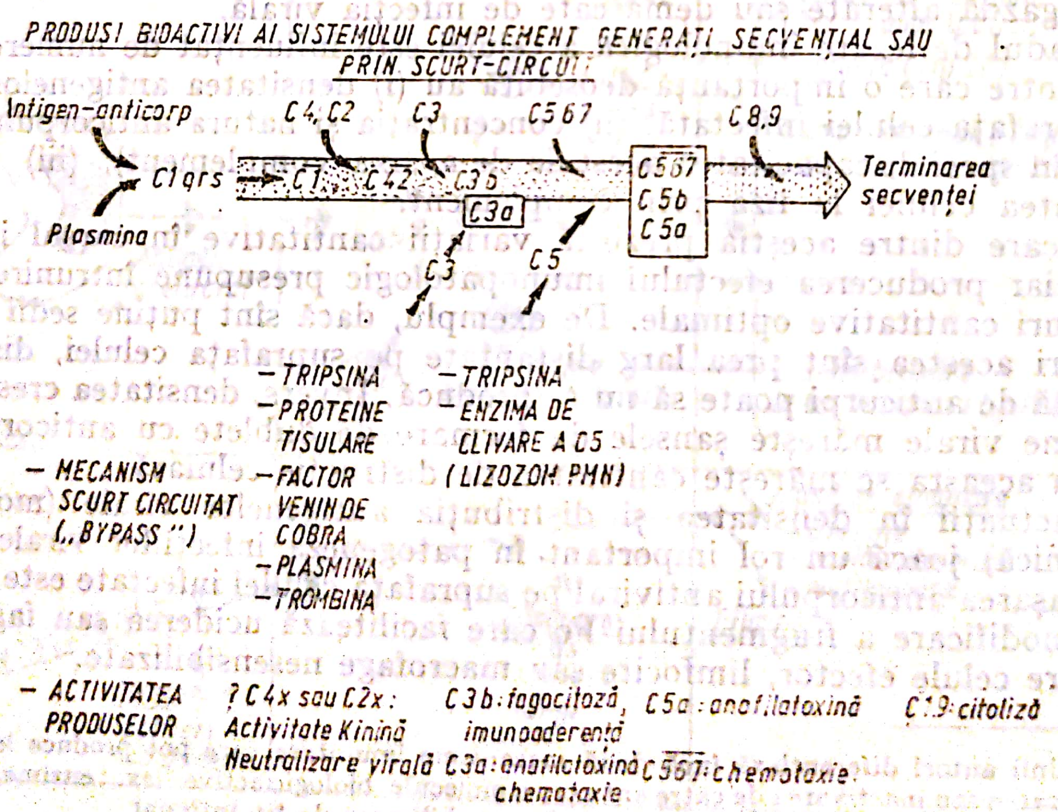

PRODUSI BIOACTIVI AI SISTEMULUI COMPLEMENT GENERATI SECVENȚIAL SAU PRIN SCURT-CIRCUIT
Antigen-anticorp
Plasmina
C1qrs
C1
C42
C3b
C3a
C4, C2
C3
C567
C8,9
C$\overline{567}$
C5b
C5a
Terminarea secvenței
C3
C5
– MECANISM SCURT CIRCUITAT („BYPASS")
– TRIPSINA
– PROTEINE TISULARE
– FACTOR VENIN DE COBRA
– PLASMINA
– TROMBINA
– TRIPSINA
– ENZIMA DE CLIVARE A C5 (LIZOZOM PMN)
– ACTIVITATEA PRODUSELOR
? C4x sau C2x : Activitate Kinină Neutralizare virală
C3b: fagocitoză, imunoaderență
C3a: anafilatoxină chemotaxie
C5a : anafilatoxină
C$\overline{567}$: chemotaxie
C 8,9: citoliză

Fig. 266 : Diagramă reprezentînd activitățile biologice a sistemului complement și mecanisme de producere a produșilor biologic activi.(*Bellanti, J.A.*)

În plus, în asociații cu infecții virale, gazda poate elabora anticorpi față de antigene de origine necunoscută cum sînt imunoglobuline (factor reumatoid), RNA sau DNA.

Complexele V—Ac * prezente în circulație sînt fie fagocitate de celule SRE (unele au receptori pentru recunoașterea diferitelor clase de IgG sau C′), fie depozitate în țesuturi. În infecțiile cu virusuri care alterează funcțiile normale ale celulelor SRE, crește cantitatea de complexe imune în circulație. În general, descreșterea eficienței funcționale a SRE precede debutul depozitării în țesuturi a complexelor imune (tab. 120).

Odată formate în faza fluidă (ex. în circulație), complexele imune virus-anticorp *(V—Ac)* pot reacționa cu complementul *(C)*, formînd complexe *V—Ac—C* de dimensiuni mai mari și care sînt agenți patogeni puternici prin depozitarea lor consecutivă în țesuturi și inițierea de răspunsuri inflamatorii (analog mecanismului din boala serului).

Complexe V—Ac se pot forma prin combinarea anticorpilor (i) cu virus liber în faza fluidă sau (ii) pe membrane celulare prin „bonetarea" antigenelor sau receptorilor și exfolierea (extruzia) consecutivă în faza fluidă a complexelor imune formate (ca de ex. în infecția cu virus rujeolic sau oncornavirus).

Tabelul 120

Boli prin complexe imune induse de infecții virale

Specia gazdă	Infecția	Prezența[1] complexelor imune în		Recuperarea de anticorp sau virus din complexe
		circulație	țesuturi	
Om	Hepatita tip B	+	+	+
	Limfomul lui Burkitt (virus Epstein-Barr)	+	+	+
	Febra hemoragică Denga	+	+	?
	SSPE (virus rujeolic)	+	+	+
Şoarece	Dehidrogenaza lactică	+	+	+
	Choriomeningita limfocitară	+	+	+
	Oncornavirusuri :			
	— leucemia Moloney	+	+	+
	— sarcomul murin	+	+	+
	— leucemia Gross	+	+	+
	— leucemia Friend	?	+	?
	— leucemia Rauscher	?	+	?
	Polyomavirus	?	+	+
	Coxsackie B virus	?	+	?
	Citomegalovirus	?	+	+
Vizon	Boala Aleutiană	+	+	+
Cal	Anemia infecțioasă equină	+	+	+
Porc	Hog cholera (Togavirus)	?	+	?

[1] Identificarea complexelor imune poate fi făcută prin metode variate : microscopie, electronică, ultracentrifugare analitică, aglutinare plachetară, precipitarea Cl_q, utilizarea sau consum de C′, precipitare monoclonală a factorului reumatoid, utilizare de culturi de celule cu sedii receptor pentru C_3 legat etc.
(după *Oldstone, M. B .A.* și *Dixon, F. J.*, 1975)

---

* V—Ac = virus-anticorp

Îndepărtarea complexelor imune din circulație și captarea lor în țesuturi sînt procese active, care ar consta din succesiunea următoarelor evenimente : (1) complexele imune circulă în vase sanguine ; (2) în prezența leucocitelor bazofile cu anticorp IgE aderent, antigenul induce eliberarea de materiale vasoactive din granulații bazofile ca și factor de activare plachetară care produce aglomerarea plachetelor și liberarea aminelor vasoactive ; (3) aminele vasoactive măresc permeabilitatea vasculară și (4) complexele imune macromoleculare părăsesc vasul și sînt captate în lungul membranelor filtrante producînd leziuni.

În infecții virale *cronice* în care se sintetizează continuu antigen viral care stimulează mereu un răspuns imun din partea gazdei, complexele imune formate produc, de obicei, *nefrită* și *arterită* ca de exemplu la om în hepatita virală tip B, infecția cu virus Epstein-Barr, cu virus rujeolic etc. (vezi tabel 121).

Odată depozitate în țesuturi, complexele V—Ac sînt identificate prin aspectul morfologic caracteristic : antigenul viral (structural sau nestructural), imunoglobulina și complementul gazdă se depun în lungul membranelor bazale, dînd un aspect granular, discontinuu, evidențiabil la microscopul electronic sau imunofluorescență.

Complexele imune virale se depozitează cel mai abundent în *glomerulii renali* și, în ceva mai mică măsură, în *pereții vaselor sanguine* și în *plexuri choroide*. Mai rar se depozitează în *articulații*, *cord*, *pulmoni* și *ficat*.

Formarea V—Ac este un eveniment normal în toate infecțiile virale acute sau cronice cu răspuns imun însă acumularea de complexe în țesuturi se produce numai dacă rata degradării sau a eliminării acestora este mai mică decît aceea a depunerii.

Tabelul 121

Infecții virale persistente cu virus și anticorpi (complexe imune) demonstrabili *in vivo*

Exemple	Gazda	Sediul infecției	Anticorpi ne-neutralizanți *	Boala
Choriomeningita limfocitară	șoarece	diseminat, inclusiv țesut limfoid	+	glomerulonefrită
Virusul dehidrogenazei lactice	șoarece	macrofage	+	complexe imune în glomeruli, fără boală
Boala aleutiană	vizon	macrofage	++	arterită, glomerulonefrită, hiperglobulinemie
Anemia infecțioasă ecvină	cal	macrofage	?	anemie, vasculită, glomerulonefrită
Leucemia murină	șoarece	diseminat	+	complexe imune în glomeruli ; ocazional leucemie
Leucoza aviară	găină	diseminat	+	ocazional leucemie ; rareori sarcom

* Complexele imune sînt infectante (cînd sînt formate cu virioni).

Complexele depozitate activează diferiţi mediatori ai inflamaţiei şi pot cauza leziuni ca de exemplu grade variate de glomerulonefrită, de la uşoară îngroşare a membranelor bazale şi proliferarea celulelor mezangiale fără semne clinice de boală renală pînă la ocluzia capilarelor glomerulare, insuficienţă renală şi deces.

La animale cu infecţie virală cronică, prezenţa complexelor V—Ac circulante şi leziunile renale glomerulare asociate sînt comune şi sugerează existenţa etiologiei infecţioase similare în multe glomerulonefrite la om.

A fost semnalată repetat asociaţia infecţiei cu *virus hepatitic tip B* cu complexe V—Ac circulante şi *poliarterită nodoasă*. În vasele lezate au fost puse în evidenţă antigen hepatitic B, anticorp specific anti-HB şi complement.

Complexele formate de virusuri şi Ig ar fi răspunzătoare de cca 50% din cazurile de poliarterită nodoasă, un loc important revenind infecţiei cu virus hepatitic tip B.

De asemenea, la om, complexe imune cu virus rubeolic şi CMV au fost asociate cu leziuni de *vasculită*.

La şoarece infectat cronic cu virus CML, complexe imune V—Ac se depozitează şi în *plexurile choroide*, proces care poate avea loc şi în infecţii acute sau cronice la om, choroidita prin complexe imune explicînd semnele şi simptomele nervoase.

3. REACŢII DE HIPERSENSIBILIZARE DE TIP ÎNTÎRZIAT ÎN INFECŢII VIRALE

Sînt iniţiate de *puţine limfocite specific sensibilizate* (LSS) care posedă un receptor sau mecanism care le conferă capacitatea de a recunoaşte şi răspunde specific la antigene depozitate (localizate) într-un sediu celular, tisular.

Prin elaborare de mediatori solubili, într-un interval de timp, se constituie infiltraţia perivasculară caracteristică cu limfocite şi monocite care se extinde la întreaga arie interesată de proces. Reacţia conferă protecţie faţă de infecţia virală însă atacul declanşat faţă de antigene virale are ca urmare distrugerea a însuşi celulelor gazdă *(innocent bystander reaction* = reacţia spectatorului inocent).

Expresia clinică a reacţiei IMC depinde de localizarea tisulară a antigenului.

a) **Exanteme virale.** Leziunile locale din vaccină sînt date de reacţia de sensibilizare de tip întîrziat: în prima fază (primele 8 zile) leziunea papulo-veziculoasă este rezultatul acţiunii virusului în multiplicare; în faza a doua (8—14 zile) reacţia eritematoasă indurată ţine de intrarea în acţiune a mecanismului de sensibilizare (IMC).

În alte infecţii virale cu exantem, cum sînt rujeola, varicela, în care se produc leziuni multiple, diseminate, mecanismul lezării ar fi de asemenea acela mediat de celule (IMC) deşi nu este exclusă contribuţia şi a anticorpului umoral reacţionînd cu antigenul viral în determinarea unui fenomen tip Arthus localizat în piele. *Raşul prodromal* însă este produs prin complexe V—Ac.

b) **Choriomeningita limfocitară.** Leziunile cerebrale în infecţia experimentală cu virus CML la şoarece nu ţin de acţiunea virusului asupra celulelor din creier ci de reacţia IMC faţă de antigenele virale localizate în creier. Rezultatul a două inoculări de virus CML la acelaşi animal, prima subcutanată cu o doză subletală şi a doua intracerebrală cu o doză letală, depinde de intervalul între inoculări : (i) dacă intervalul este *mai mic de 4 zile* animalul moare cu leziuni tipice date de reacţia IMC declanşată de inocularea precedentă subcutanată, reacţie care se perfectează, se amplifică, se precipită şi se localizează în SNC (organ-ţintă) ca urmare a multiplicării virusului CML inoculat intracerebral ; (ii) dacă intervalul între inocularea subcutanată şi cea intracerebrală este *de 7 zile sau mai mare* animalul supravieţuieşte deoarece în acest timp reacţia IMC este complet dezvoltată şi împiedică diseminarea şi multiplicarea virusului.

Aceeaşi concluzie se degajă din faptul că supresia IMC (cu amethopterin, radiaţii X, ser antilimfocitar, timectomie neonatală) suprimă simptomele de CML deşi virusul poate fi izolat din creier timp îndelungat după inocularea intracerebrală. Asemenea şoareci însă pot face boală prin complexe imune (glomerulonefrită, choroidită).

Pe de altă parte, transferul de celule imune la un animal infectat latent cu CML induce boala imunopatologică.

Virusul CML este specia tip a genului Arenavirus care grupează 10 virusuri transmisibile omului (virus Lassa, Tacaribe, Junin etc.) cauzînd la gazda naturală infecţii persistente cu viremie şi virurie şi caracterizate de multiple reacţii imunopatologice mediate umoral şi/sau celular. Infecţia umană cu virus CML nu este rară.

c) **Jigodia canină**. Este determinată de un virus strîns înrudit cu virusul rujeolei, ambele formînd genul Morbillivirus în familia Paramyxoviridae. Ca şi la om, infecţia acută sistemică este în marea majoritate a cazurilor urmată de vindecare. O anumită proporţie face însă, după o perioadă latentă de cîteva săptămîni, encefalomielita demielinizantă post-infecţioasă iar un număr şi mai redus fac „encefalita cîinelui bătrîn" care este întru totul similară cu PESS umană.

În ser apar anticorpi în titru mare faţă de antigene virale şi faţă de mielină. Demielinizarea este dată de limfocite specific sensibilizate reacţionînd cu antigen viral prezent în ţesuturi mielinice ori cu antigen mielinic devenit imunogen în urma infecţiei virale. Anticorpul umoral ar juca un rol în iniţierea reacţiilor vasculare sau, eventual, protector (anticorp blocant).

d) **Encefalopatii virale la om.** Sînt variate forme în raport de virus şi de tipul şi intensitatea răspunsului imun.

(i) *Encefalite acute* prin infecţii acute litice de exemplu cu virus poliomielitic, rabic, herpetic, în care virusul distruge celula nervoasă iar răspunsul imun este protector.

(ii) *Encefalomielita alergică post-infecţioasă* apare în urma unei infecţii virale uşoare, cu virusuri care singure nu dau leziuni nervoase, şi este cauzată de o reacţie autoalergică dată de celule sensibilizate la mielină, posibil ca urmare a prezenţei unui antigen gazdă alterat sau unei combinaţii antigen viral-mielină gazdă.

Asemenea reacţii pot surveni după rujeolă, oreion, vaccinare cu virus rabic sau vaccinia.

(iii) *Infecţii virale latente* şi inaparente, ca urmare a unei modificări în reactivitatea imunitară a gazdei, pot deveni clinic manifeste.

Astfel, *leucoencefalopatia multifocală progresivă*, cauzată de un papovavirus, survine la bolnavi cu imunitate deprimată (leucemie, limfom) la fel ca şi boala prin infecţia sistemică cu *CMV* la bolnavi cu terapie imunosupresivă pentru transplant renal.

Invers, intensificarea răspunsului imun mediat celular, induce boala la şoarece infectat persistent cu virus CML.

(iv) *Encefalomielite cronice.* Sînt caracterizate de evoluţie prelungită, curs neregulat, variaţii în reactivitatea imunitară şi distrucţii ale celulelor nervoase cauzate de virus. PESS este considerată o manifestare la adult a infecţiei din copilărie cu virus rujeolic pe fond de reactivitate imună deficitară. Se notează incluzii în neuroni şi titruri mari de anticorpi în ser şi LCR faţă de virus rujeolic şi o evoluţie continuă, fără remisiuni, progresiv pînă la deces.

Scleroza multiplă ar putea fi de asemenea legată de virus rujeolic (sau jigodios?) întrucît se asociază cu anticorpi faţă de acest virus însă evoluţia este îndelungată, caracterizată de remisiuni şi atacuri repetate, posibil cauzate de puseuri de răspunsuri mediate celular faţă de mielină.

(v) *Infecţii cu virusuri lente* reprezentate de boala Kuru şi boala Creutzfeldt-Jacob: după o perioadă latentă se instalează treptat o boală progresiv agravată pînă la sfîrşitul letal, caracterizată de acumularea în celule de membrane anormale şi de absenţa răspunsului inflamator şi reacţiei imune a gazdei.

e) **Hepatita virală tip B.** Infecţia cu virusul hepatitic tip B are o incubaţie de cîteva săptămîni sau cîteva luni şi poate varia considerabil ca gravitate de la infecţii clinic inaparente pînă la forme fulminante, rapid progresive spre sfîrşit letal, cu distrucţia completă a ficatului.

Aproximativ 5% din bolnavii de hepatită rămîn *purtători cronici de AgHBs* fie fără semne de leziuni hepatice, fie asociat cu hepatită cronică persistentă sau cu hepatită cronică activă (agresivă).

Hepatita cronică cu virus B se poate vindeca spontan la cîţiva ani de la debut.

Cu tehnici sensibile (ex.: RIA, RIP), în cursul infecţiei se pune întîi în evidenţă *AgHBs în ser*, urmat de apariţia în ser a activităţii *DNA-polimerază virală*. În infecţia acută, auto-limitată, primul răpuns imun este apariţia *anti-HBc* ceea ce de regulă urmează imediat după dispariţia activităţii DNA-polimerază şi coincide cu creşterea activităţii transaminază în ser.

Apariţia *anti-HBs* este variabilă: se poate produce precoce în faza acută, concomitent cu creşterea activităţii transaminază şi pînă la cîteva luni după încetarea prezenţei AgHBs în ser.

Ca răspuns la AgHBs se produce şi reacţie imună mediată celular, evidenţiată de teste *in vitro* de transformare blastică a limfocitelor, de inhibare a migrării macrofagelor sau a limfocitelor.

Limfocitele de bolnav elaborează MIF în cantitate maximală în intervalul între debut şi maximul de activitate transaminazică.

În teste *in vitro* pentru evaluarea IMC faţă de AgHBs la bolnavi cu hepatită cronică persistentă sau cronică activă au fost obţinute rezultate contradictorii. Răspunsul IMC la AgHBc este mai frecvent atît în infecţia acută cît şi cronică.

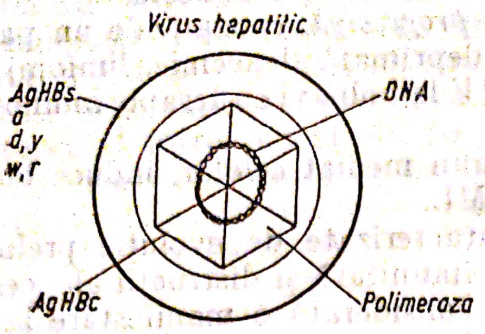


Fig. 267 : Reprezentare schematică a virusului hepatitei tip B.

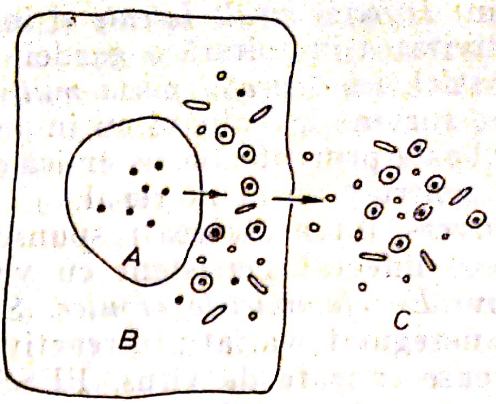


Fig. 268 : Schema etapelor de sinteză a virusului hepatitei tip B:

Nucleocapside (AgHBc) sînt sintetizate în nucleul hepatocitului (*A*) și capătă învelișul extern în citoplasmă unde proteine virale de înveliș (AgHBs) sînt sintetizate în exces (*B*). Nucleocapside învelite (particule Dane) și excesul de proteine virale (sferice sau filamentoase) sînt liberate în circulație (*C*). (*Purcell, R.*)

În faza acută a bolii și la începutul convalescenței a fost evidențiată o supresie a funcției celulelor T (aproximativ 25% sînt celule areactive, „nule", în perioada de supresie).

Virusul hepatitic B (VHB) nu apare ca avînd o activitate citopatogenă deosebită : a fost pus în evidență în hepatocite histologic normale. AgHBs este prezent lîngă sau pe suprafața celulelor infectate și este liberat în cantități mari în circulație. Leziunile hepatice se caracterizează prin infiltrație periportală cu mononucleare.

Participarea reacțiilor imunologice în patogenia hepatitei virale este susținută de : (i) asocierea în timp a manifestărilor clinice de hepatită B cu dezvoltarea răspunsului imun, humoral și celular, față de AgHBc și uneori la AgHBs mai curînd decît asociat cu prezența în circulație a AgHBs ; (ii) demonstrarea complexelor imune AgHBs-Anti-HBs în ser la aproximativ 70% din purtători de AgHBs ; (iii) prezența precoce de titruri mari de anti-HBs la o parte însemnată din bolnavii cu hepatită fulminantă, sugerînd un rol al anticorpilor în patogenia acestei forme clinice.

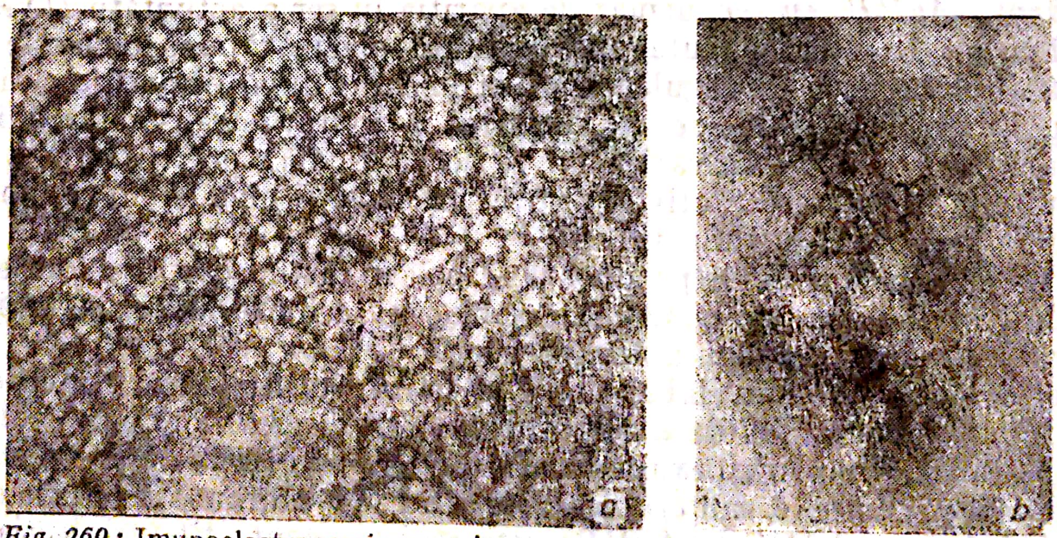


Fig. 269 : Imunoelectronomicroscopie a componentelor virusului hepatitei tip B.
a : Complexe antigen-anticorp tipice în ser de bolnav de hepatită B (AgHBs sferic și filamentos).
b : Particule Dane și puțin AgHBs (× 90 000). (*Fauwell M.*)

Deşi mecanismul producerii leziunilor în hepatita B nu este bine cunoscut, se presupune că au loc, cel puţin în parte, ca urmare a interacţiunii între celule hepatice şi componente umorale sau celulare ale răspunsului imun al gazdei dirijat spre AgHBs şi/sau AgHBc, sau faţă de antigene hepatice expuse sau făcute imunogene prin infecţia cu VHB. (vezi cap. Autoimunitate în infecţii virale).

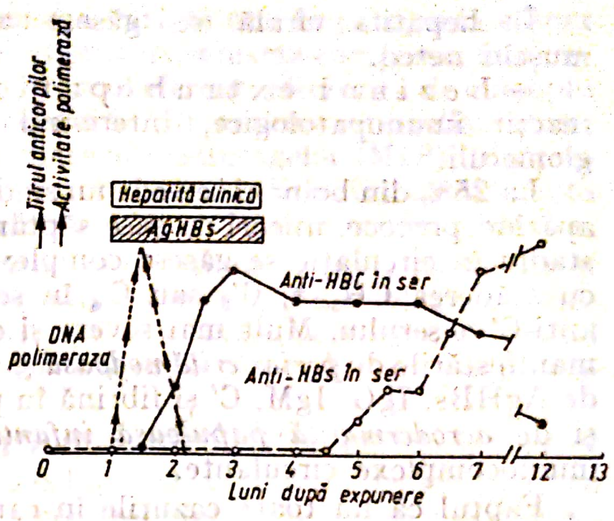


Fig. 270: Reprezentarea schematică a evenimentelor în infecţia acută cu virusul hepatitei tip B. (*Hoofnagle, J.H.* şi colab.)

Răspunsul umoral, mediat prin acţiune directă anticorp-antigen cu activarea C * sau prin CMCDA **, nu pare să fie cauza *primară* a leziunilor hepatice pentru că (i) transferul pasiv de anti-HBs la purtător cronic de AgHBs nu are efect nociv, (ii) nu este o relaţie strînsă între prezenţa anti-HBs sau anti-HBc, (iii) deşi anti-HBc apare adesea în perioada leziunilor hepatice acute, anti-HBs nu apare decît după vindecarea leziunilor, (iv) pacienţi cu hipogamaglobulinemie tind să facă forme mai severe de hepatită B.

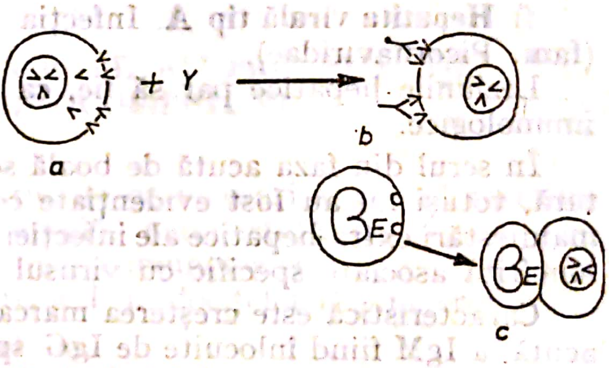


Fig. 271: Schema reacţiei citotoxice mediată de celule-dependentă de anticorp (CMCDA) în infecţia virală.

Pe membrana celulei (*a*) infectată apar antigene virus specifice (v). Anticorpul (Y) se combină cu antigenele virale (*b*) şi suferă o modificare în regiunea *Fc* (buton). Celula efector (*E*) recunoaşte anticorpul modificat, se ataşează şi, prin contact intim, distruge celula infectată. (*Allison, A.C.*)

Răspunsul IMC pare să fie responsabil de modificările patologice din hepatita B pentru că (i) pacienţi cu IMC deficitară tind să facă forme clinice mai uşoare decît cei cu reactivitate normală, (ii) imunosupresia (ex.: corticoterapia) diminuă expresia clinică a hepatitei B şi (iii) invers, transferul pasiv de limfocite sau factor de transfer (TF) de la convalescenţi de hepatită B la purtători cronici de AgHBs induc agravarea severităţii hepatitei la receptori.

S-ar degaja din acestea concluzia că reacţii IMC faţă de antigene virale exprimate pe suprafaţa celulelor hepatice ori faţă de antigene ale hepatocitelor devenite imunogene prin asociere cu componente virale ar fi mecanismul primar al distrucţiei celulelor hepatice care duce fie la eliminarea celulelor infectate şi vindecare ori la deces.

Hepatita cronică activă (agresivă) poate surveni după hepatita acută sau fără episod acut. Forma de hepatită cronică agresivă asociată cu lupus eritematos are caracterele unei boli autoalergice.

---

* C = complement

** CMCDA = citoliza mediată de celule dependentă de anticorp

În hepatita virală se găsesc anticorpi serici față de ficat, splină, mușchi neted.

— Leziuni extrahepatice în hepatita B pot fi produse prin reacții imunopatologice, interesînd pielea, articulații, arteriole mici și glomeruli.

La 25% din bolnavi se vede un sindrom tranzitor asemănător *bolii serului* apărînd precoce, uneori cu șase săptămîni înainte de debutul bolii. În acest stadiu în circulație se găsesc complexe cu AgHBs și IgG sau IgM asociat cu scăderea CH_{50} *, C'_3 sau C'_4 în ser și lichid articular, și cu activitate anti-C' a serului. Mult mai severe și cu mortalitate ridicată (cca 30%) sînt manifestările de *periarterită nodoasă* și de *glomerulonefrită cronică*, cu depozite de AgHBs, IgG, IgM, C' și fibrină în pereții vaselor lezate sau în glomeruli, și de *acrodermatită papuloasă infantilă*, manifestări cauzate probabil de imunocomplexe circulante.

Faptul că nu toate cazurile în care sînt prezente complexele imune se însoțesc de manifestări patologice se explică probabil prin aceea că este necesar un anumit raport antigen/anticorp și o anumită dimensiune pentru a deveni toxice.

f) **Hepatita virală tip A**. Infecția este determinată de un enterovirus (fam. Picornaviridae).

Leziunile hepatice par să fie, ca și în hepatita B, mediate de procese imunologice.

În serul din faza acută de boală se decelează activitate anticomplementară, totuși nu au fost evidențiate complexe imune. De asemenea, lipsesc manifestări extra-hepatice ale infecției ca de pildă artrită, arterită și glomerulonefrită asociate specific cu virusul de tip A (VHA).

Caracteristică este creșterea marcantă, pentru relativ scurt timp în faza acută, a IgM fiind înlocuite de IgG specifice anti-VHA a căror titru crește mult în convalescență și persistă timp nedefinit.

— Factori extrinseci în hepatita virală.

Studii experimentale în hepatita virală la șoareci cu virusul hepatitei șoarecelui *(MHV)*, un coronavirus, demonstrează cu claritate faptul că administrarea de *corticosteroizi* (Prednisolon, 17-hidrocorticosteron) mărește susceptibilitatea la infecție: morbiditatea și mortalitatea sînt crescute, leziunile hepatocelulare sînt mai severe, producția de virus în ficat și țesutul limfoid este mărită și prelungită. Linii genetic rezistente de șoareci devin susceptibile la infecție, la fel ca și macrofagele lor în cultură, prin administrare de corticosteroizi.

Explicația ar consta în intensificarea replicării virusului în celule Kupffer, alterarea funcțiilor celulelor SRE (probabil stabilizarea membranei lizozomale) sau inhibarea producției de interferon.

Observații clinice în hepatitele virale A și B la om concordă cu datele experimentale menționate mai sus prin aceea că deși hepatita severă la om se tratează cu cortizon nu s-a obținut modificarea prognozei și terapia cu cortizon în hepatita B necomplicată pare să favorizeze persistența antigenemiei.

---

* CH_{50} = complement total hemolitic 50%

Corticoterapia modifică expresia clinică a variate boli în patogenia cărora IMC ocupă un loc important, intervenind prin mecanisme complexe, în oarecare măsură cunoscute, și care intervin pe arcul eferent, efector ca de exemplu (i) limfocitopenie prin redistribuţie celulară, (ii) acţiune antiinflamatorie prin blocarea factorului de inhibare a migrării macrofagelor (MIF), (iii) prevenirea sau supresia altor fenomene precoce sau tardive din componența inflamaţiei, ca de pildă stabilizarea membranei lizozomale a celulelor efector.

Se propune recent de către unii autori și o acțiune la nivel molecular și anume, formare de complexe steroid-receptor în membrana celulelor steroid-sensitive. De asemenea s-a descris apariția, sub acțiunea cortizonului, a unui factor anti-inflamator care stimulează migrarea leucocitelor polimorfonucleare.

Corticoterapia nu interferează însă evoluția infecției virale și nici arcul aferent de edificare a imunității mediată celular. De un interes deosebit pentru evoluţia hepatitelor virale este acţiunea cortizonului de întîrziere a diviziunilor celulare în multiple sisteme celulare inclusiv a celulelor hepatice normale și mai ales a celor aflate în regenerare.

B. EFECTUL INFECȚIILOR VIRALE ASUPRA FUNCȚIEI SISTEMULUI IMUNOCOMPETENT

Infecțiile la om și animale cu o varietate de virusuri alterează reactivitatea imunologică celulară sau/și umorală, manifestată de regulă prin supresie sau depresie funcţională. Disfuncţia imunologică ţine de modificările induse de virus în funcţiile limfocitelor T, limfocitelor B și macrofagelor.

a) **Supresia imunității mediată celular.**

(i) *Sensibilizarea de tip întîrziat.* Pierderea reactivității cutanate la tuberculină (IDR) a fost observată prima dată la copiii cu rujeolă : lipsa de reactivitate se instituie cu cîteva zile înainte de debutul rașului și reapare la 5—10 zile după dispariția exantemului.

Supresia IDR la tuberculină și la alte antigene se observă și după vaccin viu rujeolic timp de cîteva săptămîni.

De asemenea o depresie temporară a IDR se observă în infecții naturale sau după vaccin viu gripal, oreion, varicelă, rubeolă, poliomielită, febra galbenă, variolă, mononucleoza infecțioasă și experimental la animale inoculate cu virusul leucemiei Friend.

(ii) *Imunitatea la transplant.* Șoarecii infectați cu virusul dehidrogenazei lactice *(LDV)*, bolii Newcastle *(NDV)* și citomegalovirus *(CMV)* întîrzie rejetul allogrefei cu 1—3 zile față de martori. Aceeași reținere prelungită a grefei se observă la șoareci infectați cu oncornavirusuri (Gross, Friend, Bittner) și la găini cu boala lui Marek (tabel 122).

(iii) *Reactivitatea limfocitelor* **in vitro.** Limfocitele periferice de la persoane infectate natural cu (sau care au primit vaccin viu) rujeolă, gripă, rubeolă congenitală, mononucleoză infecțioasă, hepatită virală, CMV au o reactivitate scăzută *in vitro* la antigen sau PHA.

La fel, în infecția experimentală la șoarece cu oncornavirusuri.

Tabelul 122

Terminologia folosită în experimente de transplantare

Înrudire genetică între donator și receptor (gazdă)	Sinonime folosite pentru identificarea animalului	Sinonime folosite pentru identificarea grefei
Același animal	Autolog = autogen	Autogrefă
Animale genetic compatibile din aceeași tulpină consangvină (inbred)	Izolog = izogeneic = singeneic	Izogrefă = grefă singeneică
Animale din aceeași specie însă genetic incompatibile	Homolog = allogeneic	Homogrefă = grefă allogeneică
Animale de specii diferite	Heterolog = xenogeneic	Heterogrefă = xenogrefă

b) **Anomalii în răspunsul umoral.**

(i) *Modificări ale nivelelor de imunoglobuline serice.* Creșterea nivelelor de Ig serice (în special IgM) se observă la animale infectate cu LDV, encefalita ecvină de Venezuela *(VEE)*, boala Aleutiană a vizonului și la bolnavi cu mononucleoză infecțioasă și hepatită virală.

(ii) *Intensificarea formării anticorpogenezei* se remarcă la șoareci infectați cu LDV sau VEE și interesează în special IgM.

(iii) *Supresia anticorpogenezei.* Survine la animale infectate cu virus rujeolic, CMV, VEE, CML, LDV, Junin, al bolii Aleutiene etc., ca și la copii cu rubeolă congenitală.

De asemenea, infecția cu virusuri oncogene, ca de exemplu virus Marek, virusurile leucemiilor Friend și Rauscher etc., induce o supresie severă a răspunsurilor în anticorpi IgG și IgM.

c) **Mecanisme posibile de inducere a disfuncției imunitare prin virus.** Multiple mecanisme au fost considerate că ar putea fi implicate și anume: (i) alterarea funcțiilor macrofagelor ca urmare a infectării cu virusuri, (ii) distrucția limfocitelor prin infecție virală (leucopenia) fără sau după stimulare cu mitogeni, (iii) inhibarea activării și proliferării limfocitelor ca urmare a infecției cu virusuri care suprimă transformarea blastică, (iv) alterarea traficului limfocitelor și distribuției acestora între sînge și limfă, (v) stimularea celulelor supresor.

Elementul comun în multe din aceste mecanisme este disfuncția limfocitelor T, în special a activităților efector și helper (cooperantă). Prin interacțiune directă cu limfocitele T sau indirect prin inducerea producției de interferon sau de alte produse, virusul poate inhiba reactivitatea celulelor T.

Invers, multiplicarea virală ar putea duce la stimularea celulelor supresor care la rîndul lor vor inhiba răspunsurile limfocitelor T și B care nu sînt direct infectate de virus.

C. AUTOIMUNITATE ÎN INFECȚII VIRALE

Reactivitatea autoimunitară (RAI), adică răspuns imun umoral sau celular față de antigene-gazdă („self"), se poate asocia cu infecții virale specifice. Dacă în continuare, prin mecanisme autoimune, se produc și persistă leziuni tisulare, este vorba de *boală autoimună*; dacă nu, se consideră fenomen autoimun survenit în cursul unei infecţii virale.

RAI a fost descrisă în infecţii virale acute sau cronice, cu RNA- sau DNA-virusuri, virusuri goale sau învelite, infecţii experimentale sau naturale, la animale şi om. Uneori este greu de diferenţiat antigenul viral de antigen gazdă ca de exemplu în infecţia cu oncornavirus în care informaţia genetică virală este integrată şi transmisă vertical la descendenţi prin celula germinală. În acest caz nu se poate preciza dacă anticorpii anti-DNA decelaţi uneori la persoane purtătoare de oncornavirus endogen sînt faţă de DNA proviral sau DNA gazdă.

a) **Mecanisme posibile de inducere a autoreactivităţii în infecţii virale.** Iniţierea fenomenelor autoimune de către infecţii virale este posibilă prin (tabel 123): (i) eliberare de antigene „sechestrate" („segregate") din celule sau ţesuturi infectate cu virus, (ii) alterarea antigenelor membranei celulei gazdă, (iii) relaţii antigenice încrucişate între determinante antigenice virale şi antigene gazdă şi (iv) alterarea directă sau indirectă a imunocitelor sau a celulelor implicate în reglarea răspunsului imun. Primele trei mecanisme afectează calea aferentă a răspunsului imun (de prelucrare şi prezentare a antigenului) iar al patrulea se referă la defectarea mecanismului central regulator în baza căruia se operează diferenţierea self-nonself.

(i) *Eliberarea de antigene „sechestrate"*. Încă de la începutul ontogenezei, unele antigene proprii sînt segregate de sistemul imun al gazdei (ex.: DNA, RNA, mitocondrii etc.). Eliberarea lor pentru prima dată în cursul infecţiei virale citolitice poate duce la apariţia tranzitorie de autoanticorpi ca de

Tabelul 123

Mecanisme posibile de inducere a auto-imunităţii de către virusuri

Calea aferentă a răspunsului imun:

Eliberare de antigene sechestrate (acid nucleic, mitocondrii etc.)
Alterarea membranei celulare prin:
- atac enzimatic direct 1);
- interferenţă cu biosinteza membranei celulare [2];
- derepresia de antigene embrionare [3];
- pierderea antigenelor de inducere a toleranţei [4].

Reactivitate încrucişată între antigene virale şi gazdă.

Calea eferentă a răspunsului imun:

Alterarea interacţiunilor T-B sau T-T prin:
- stoparea sau ocolirea celulelor T-tolerante;
- inhibarea celulelor T-supresor.

Stimularea directă a proliferării celulelor autoagresive
Efect adjuvant nespecific.

---

[1] Neuraminidaza myxovirusurilor poate acţiona direct expunînd determinante antigenice cum sînt de exemplu antigenul Forssman.

[2] SV40 poate interfera enzime gazdă implicate în sinteza membranei şi expunînd astfel situsuri antigenice care normal sînt ascunse.

[3] EBV şi CMV determină derepresia antigenului *i* embrionar eritrocitar care lipseşte pe hematii adulte.

[4] MuLV-M şi VSV induc pierderea sau reducerea antigenului de transplantare H-2 (după *Hirsch, M. S.* şi *Proffitt, M. R.*, 1975).

exemplu anticorpii nucleari, mitocondriali, microsomali în cursul hepatitei virale. Semnificaţia lor este discutată : în titruri joase, pot reprezenta mecanismul fiziologic normal de îndepărtare a resturilor celulare care nu pot fi degradate complet enzimatic, mecanism exacerbat temporar cu ocazia infecţiei virale.

Un răspuns autoimun persistent presupune însă şi intervenţia altor mecanisme fapt demonstrat prin aceea că nu toţi şoarecii de linie NZB sau hibrizi NZB—NZW * care, cu vîrsta, fac anticorpi antinucleari şi glomerulonefrită prin complexe imune, răspund prin intensificarea reacţiei autoimună după infecţii virale cu virusuri polyoma, CML sau oncornavirus. Situaţie similară se întîlneşte la om în lupus eritematos (SLE), boală exacerbată de infecţiile virale.

(ii) *Alterarea antigenelor membranei celulei gazdă.* Alterarea expresiei antigenice a membranei gazdă în infecţii virale se poate produce prin (1) inserţia de noi antigene virus-specificate, (2) demascarea (expunerea la suprafaţă) a unor determinante antigenice anterior ascunse, (3) derepresia (re-expresia) de antigene embrionare, (4) pierderea sau represia parţială a unor antigene celulare necesare pentru menţinerea toleranţei imunologice. Astfel, infecţiile cu EBV şi CMV se asociază cu o varietate de anticorpi hemolitici (anti-membrană eritrocitară ca în anemia hemolitică autoimună). Între aceştia, hemaglutinina „la rece" este dirijată faţă de un antigen eritrocitar fetal, antigenul *i*, care dispare la adult fiind înlocuit cu antigenul *I*. Antigenul *i* este re-exprimat sau demascat de infecţiile postnatale cu EBV sau CMV.

Invers, infecţii cu MuLV-M sau VSV la şoarece au ca rezultat pierderea expresiei antigenului H-2 pe membrana celulelor infectate.

(iii) *Reactivitate imunologică încrucişată între antigenele virale şi antigene gazdă.* Molecule antigenice complexe diferite pot conţine aceleaşi determinante antigenice aşa cum se întîmplă de exemplu cu componente ale membranei celulare şi a învelişului viral. Ca urmare, răspunsul imun dirijat faţă de virus poate reacţiona încrucişat cu molecule de pe suprafaţa celulei gazdă purtătoare a determinante antigenice similare. În această situaţie, virusul poartă determinante antigenice (haptene „self" : ale gazdei) şi antigenul complex virus-gazdă este parţial codificat de virus şi parţial de gazdă.

Fenomenul se produce mai ales cu virusuri care „înmuguresc" prin membrane (ex. : oncornavirusuri) şi explică gradul de toleranţă imunologică relativă faţă de oncornavirusuri. De asemenea se explică în acest fel anemia hemolitică autoimună la şoarece infectat cu virusul leucemiei Friend sau Rauscher (MuLV-F sau MuLV-R) care înmuguresc prin membrana globulului roşu infectat : virusul intensifică imunogenitatea unui component al membranei normale de unde rezultă reactivitatea încrucişată cu eritrocite normale.

(iv) *Alterarea imunocitelor şi/sau a celulelor cu rol regulator.* Numeroase virusuri (HSV, CMV, EBV, rubeolic, SV40, oncornavirusuri etc.) infectează limfocite alterînd funcţii imune cum sînt anticorpogeneza, răspunsul la mitogeni, activităţile T-helper şi T-supresor şi recircularea (traficul) limfocitelor.

Aceste activităţi sînt atribuite diferitelor subpopulaţii de limfocite iar virusurile prezintă afinităţi selective pentru diferite subpopulaţii de imunocite : astfel de exemplu EBV pentru limfocite B, herpesvirus saimiri pentru limfocite T, MuLV-F pentru limfocite B-memorie aflate în curs de diferenţiere, MuLV-M pentru celule T-supresor.

---

* New Zealand Black; New Zealand White

Infecţia virală selectivă a unei subpopulaţii de limfocite va induce întreruperea funcţiei imune la acel nivel. Răspunsul autoimun, ca orice răspuns imun, necesită cooperarea celulelor T-helper cu celule efector T sau B. Dacă atît celule helper cît şi celule efector cu activitate anti-self sînt active funcţional, rezultă autoimunitate. Dacă celulele T-helper sînt areactive rezultă toleranţă. Infecţia virală selectivă a celulelor T-helper (de exemplu cu herpes virus saimiri) le activează şi prin aceasta induce ruperea toleranţei la self deci reactivitatea autoimună.

În mod analog, infecţia virală selectivă a celulelor T-supresor poate induce dereglarea răspunsurilor imune efector T sau B.

Prin asemenea mecanisme de activare selectivă a subpopulaţii celulare, virusurile oncogene pot induce variate perturbări ale reglării răspunsurilor imune şi invers, reactivitatea imunologică poate activa oncornavirusuri endogene.

Experimental, stimularea unei reacţii grefă-*versus*-gazdă la unele tulpini de şoareci a dus la activarea oncornavirusului tip C endogen şi producerea ulterior a unui sarcom reticulocelular prin proliferare neoplastică a precursori de macrofagi funcţional activi. Mecanisme similare virus-induse pot fi implicate şi în alte dezordini limfoproliferative (limfoame, sarcoame, imunoblastoame etc.).

De asemenea, infecţiile virale cronice şi persistente pot acţiona, analog adjuvantului Freund, ca stimul nespecific al reacţiei autoimune la nivelul efectorilor inducînd, de exemplu, encefalomielita alergică experimentală sau alte dezordini autoimune.

BIBLIOGRAFIE

1. ALLISON A. C.: Immunity and Immunopathology in Virus Infections. Ann. Inst. Pasteur, Paris, *123*, 4, 585—608, 1972.

2. EDITORIAL: Immunostimulation. *Lancet*, 1, 349—350, 1976.

3. GREGORY P.B., KNAUER C.M., KEMPSON R.L., MILLER R.: Steroid Therapy in Severe Viral Hepatitis. *New. Engl. J. Med.*, *294*, 13, 681, 1976.

4. GUDAT F., BIANCHI L., SONNABEND W., THIEL G., AENISHAENSLIN W., STALDER G.A.: Pattern of Core and Surface Expression in Liver Tissue Reflects the State of Specific Immune Response in Hepatitis B. *Lab. Invest.*, *32*, 1, 1—9, 1975.

5. HALSTEAD S.B., SHOTWELL H., CASALS J.: Studies on the Pathogenesis of Dengue Infection in Mokeys. *J. Infect. Dis.*, *128*, I, 7—31, 1973.

6. HAYNES R.C. Jr., LARNER J.: Adrenocorticotropic Hormone, pp. 1472—1506, in: *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, Goodman L.S., Gilman A. (Eds.), Fifth Edition. Mac Millan, Publ., Co., New York, 1975.

7. LABOWSKIE R.J., EDELMAN R., RUSTIGIAN R., BELANTI J.A.: Studies of Cell-mediated Immunity to Measles Virus, by *in vitro* Lymphocyte-mediated Cytotoxicity. *J. Infect. Dis.*, *129*, 233—239, 1974.

8. OGRA P.L., CAPPOLA P.R., Mac. GILLIVRAY M.H., DZIERBA J.L.: Mechanism of Mucosal Immunity to Viral Infections in γA Immunoglobulin-Deficiency Syndromes. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, *145*, 3, 811—816, 1974.

9. O.M.S., SÉRIE RAPP. TECHN. No. 595: *Adjuvants de l'Immunité.* Org. Mond. Santé, Geneva, 1976.

10. O.M.S., SÊRIE RAPP. TECHN. No. 606: *Le rôle des immuncomplexes en pathologie.* Org. Mond. Santé, Geneva, 1977.

11. PORTER D.D., LARSEN A.E.: Aleutian Disease of Mink: Infectious Virus-Antibody Complexes in the Serum. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, *126*, 3, 680, 1967.

12. SHIH-CHIEN S., BURCH G.E., SOHAL R.S., KANG-CHU C. Coxsakie B_4 Viral Nephritis in Mice and its Autoimmune-like phenomena. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, *126*, 3, 882, 1967.

13. WOODHOUR A.F., FRIEDMAN A., TYTELL A.A., HILLEMAN M.R.: Hyperpotentiation by Sinthetic Double-Stranded RNA of Antibody Responses to influenza virus Vaccine in Adjuvant 65. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, *131*, 3, 809, 1969.

14. WYATT H.V.: Poliomyelitis in hypogammaglobulinemics. *J. Infect. Dis.*, *128*, 6, 802—806, 1973.

XLVIII. EPIDEMIOLOGIA INFECŢIILOR VIRALE

1. NOŢIUNI GENERALE

a) **Definiţie.** *Epidemiologia* poate fi definită ca ,,studiul factorilor * care induc apariţia şi influenţează distribuţia şi evoluţia ** îmbolnăvirilor într-o populaţie ***. Este o ştiinţă aplicativă care, integrînd date ale disciplinelor fundamentale cum sînt microbiologia, parazitologia, imunologia, statistica, biometria etc., analizează cu metode proprii procesul epidemic pentru a defini relaţiile între cauze şi condiţii şi, pe această bază, oferă programe raţionale de acţiune pentru combatere, supraveghere, profilaxie.

b) **Scopurile** principale de atins sînt (i) *definirea mărimii* (importanţei) infecţiei cu un anumit virus în timp şi spaţiu într-o anumită populaţie, (ii) *evidenţierea cauzei şi a condiţiilor* modulatorii (ex. : prin izolarea şi identificarea virusului şi urmărirea difuzării sale în populaţie prin măsurători serologice), (iii) *elaborarea măsurilor de control* bazate pe cauză şi condiţii (ex. : imunizare, sanitaţie etc.), (iv) *evaluarea eficienţei* măsurilor preconizate prin metodele statistice şi analizelor cost/beneficiu.

c) **Metodele** de studiu sînt acele din domeniile epidemiologiei descriptive, analitice şi experimentale.

(i) Hotărîtoare este *omogenitatea fenomenului* analizat de unde obligativitatea *stabilirii etiologiei* îmbolnăvirilor ceea ce, în cazul a numeroase sindroame clinic foarte asemănătoare, dar care pot fi produse de agenţi foarte diferiţi ca de exemplu ,,boala acută respiratorie'', ,,gastroenterita acută'', ,,hepatita'', ,,meningita'' şi ,,meningoencefalita'' etc., nu poate fi făcută decît cu ajutorul diagnosticului prin metode de laborator.

---

* Noţiunea de ,,factor'' este concepută în lumina unităţii şi interdependenţei fenomenelor lumii obiective, a interrelaţiei între cauze şi efecte, între cauze şi condiţii : în consecinţă, factorii implicaţi în procesul epidemic sînt toate caracteristicile legate atît de gazdă cît şi de mediul ambiant care, în interacţiune, îl modulează în timp şi spaţiu.

** Epidemiologia stabileşte frecvenţa în timp şi spaţiu a acelor evenimente precis definite care sînt revelatorii pentru procesul epidemic studiat şi defineşte probabilitatea evolutivă a acestora, confruntînd mereu datele aşteptate cu acele observate.

*** ,,*Populaţia*'' este unitatea de bază a studiului *epidemiologiei* : grupul, colectivitatea, turma etc. Principiile de studiu sînt aceleaşi atît în cercetarea populaţiilor umane cît şi animale, şi care, în epidemiologie, adeseori realizează o singură unitate ecologică (ecosistem) de studiu (ex. : arboviroze) ; de aceea nu este justificată folosirea de termeni diferiţi, ,,epidemiologie'' şi respectiv, ,,epizootiologie''.

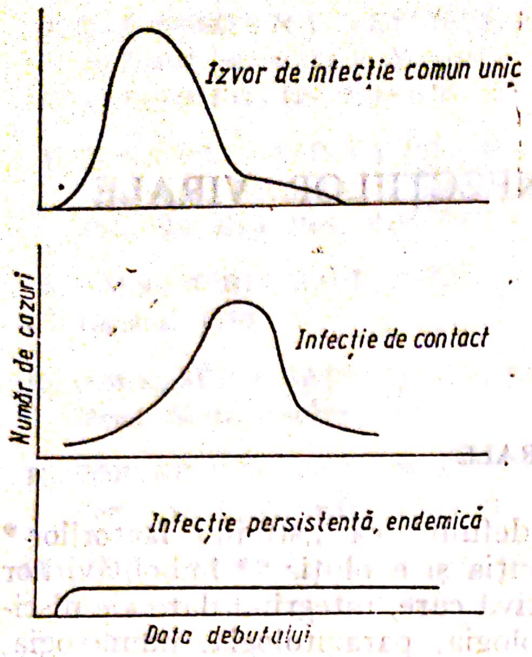


Fig. 272: Reprezentare schematică a trei tipuri de izbucniri epidemice.

Sus: Prin sursă unică de infecție și vehicul comun (apă, lapte etc.).
Mijloc: Prin infecție de contact gazdă-gazdă.
Jos: Infecție persistentă de nivel scăzut introdusă de un vehicul comun (ex.: apa).

(ii) *Vîrsta, sexul, condițiile socio-economice* și de *educație sanitară* influențează considerabil apariția și evoluția îmbolnăvirilor virale, iar studiul lor permite evidențierea *factorilor de risc* (ex.: introducerea virusului rujeolei într-o populație total receptivă va fi urmată de îmbolnăviri în toate grupele de vîrstă în timp ce într-o populație în care rujeola este endemică și cei infectați devin imuni pentru restul vieții, boala afectează numai copii mici).

(iii) *Distribuția în spațiu și în timp* a îmbolnăvirilor (considerată în funcție de *data îmbolnăvirii* și nu de data raportării cazului) furnizează indicații despre sursa de infecție, *vehiculul* (neanimat) sau *vectorul* (animat) și *mecanisme* de transmitere a infecției (ex.: epidemie de școală, de conductă de apă sau fîntînă contaminată, despre aria de distribuție și sezonalitatea encefalitelor virale transmise de artropode etc.). Plotînd pe o diagramă cazurile în raport cu data debutului se poate adeseori stabili dacă este vorba de (i) o sursă comună unică de infecție, (ii) o infecție prin contact (direct sau indirect) ori (iii) o infecție persistentă (edemică) cu nivel redus de îmbolnăviri (fig. 272).

(iv) Particular studiilor epidemiologice este cercetarea pe un *eșantion reprezentativ* sau „tipic"* pentru fenomenul studiat și populația gazdă. Un *eșantion „reprezentativ"* este acela care a fost construit în așa fel încît fiecare individ din populația reprezentată are șanse egale și independente să fie selectat.

Stabilirea *mărimii* și *compoziției* eșantionului „reprezentativ" pentru populația și fenomenul cercetat este un moment esențial și necesită aplicarea metodelor statisticii matematice **.

Eșantionul reprezentativ construit practic poate fi:

— simplu (realizat prin „tragere la sorți" din întreaga mulțime, însă prezintă riscul de a nu fi totuși reprezentativ);

— stratificat (prin alegerea „la întîmplare" a unui procent egal de reprezentanți din fiecare grupă omogenă de populație, împărțire efectuată în prealabil după criterii relevante pentru studiul propus, ca de exemplu grupe de vîrste, profesionale etc.);

— grupuri dispersate neomogene, luate la întîmplare indiferent de stratificarea populației și cît mai heterogen posibil constituite;

---

* „Tipicul" trebuie considerat ca ceea ce este caracteristic pentru esența materială a fenomenului și nu tipic în sensul de „valoare medie".

** Eșantionul poate fi calculat în așa fel încît eroarea de selecție să nu depășească o limită propusă anterior, iar datele să fie certificate cu o probabilitate fixată.

— sistematic (de exemplu tot al 10-lea nume din cartea de telefon etc.).

Eşantionul stratificat dă rezultate cu cel mai mare grad de confienţă, iar selecţia de grupe dispersate este, din punct de vedere practic, cel mai uşor realizabilă.

Studiul epidemiologic, îndeosebi al eficienţei măsurilor aplicate, impune construirea prin aceeaşi metodă a *eşantionului martor* la care se vor raporta rezultatele observate pe eşantionul reprezentativ.

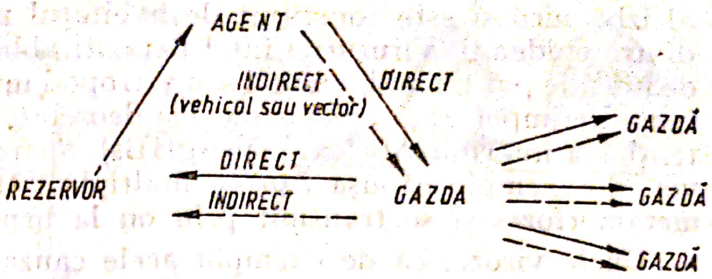


Fig. 273: Triada epidemiologică: rezervor — agent vector — gazdă.

2. TRIADA: REZERVOR-AGENT VECTOR-GAZDĂ

În înţelegerea epidemiologiei virozelor şi evaluarea corectă a *rezervorului de virus* este important de reţinut faptul că adeseori „expresia clinică" a infecţiei (boala, morbiditatea) reprezintă doar vîrful unui „aisberg", baza largă fiind reprezentată de numeroasele infecţii inaparente. Cei inaparent infectaţi devin practic la fel de imuni, deci rezistenţi la infecţie, ca şi convalescenţii. Cunoaşterea întregului şi a distribuţiei temporo-spaţiale a componentelor sale impune folosirea de informaţii culese prin măsurători specifice.

În primul rînd este necesitatea de a se defini, prin metode serologice, *starea de imunitate* a populaţiei gazdă care reflectă „în negativ" gradul de activitate a virusului în acea colectivitate.

— Seroepidemiologia constă în evidenţierea şi interpretarea „amprentelor" serologice specifice existente în populaţia gazdă ca urmare a activităţii virusurilor. Sînt de mare utilitate pentru fundamentarea programelor de control.

Îmbolnăvirile virale sînt condiţionate în primul rînd de lipsa de imunitate şi pot surveni în *epidemii* (creşterea temporară a numărului de îmbolnăviri ceea ce indică o *modificare* însemnată a condiţiilor care influenţează difuzarea virusului în acea colectivitate) sau în *endemii* (un număr relativ redus de cazuri dar constant prezent, edificator pentru *persistenţa* condiţiilor favorizante de transmitere a bolii).

Incidenţa (numărul de noi cazuri de îmbolnăvire care survine într-o perioadă anumită de timp) unei infecţii virale poate prezenta *variaţii sezoniere* (ex.: arboviroze) sau *variaţii ciclice* (ex.: rujeola bienal în majoritatea colectivităţilor).

a) **Rezervor de virus.** Rezervor este sursa de infecţie pentru primul caz

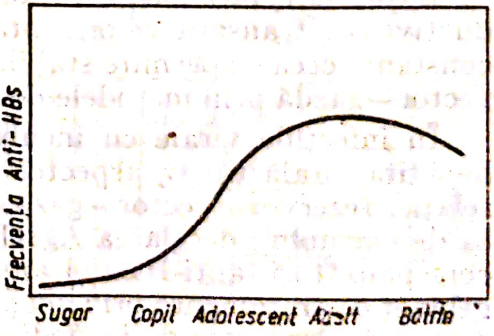


Fig. 274: Relaţia între vîrstă şi frecvenţa anticorpilor anti-HBs exprimă particularităţile epidemiologice ale hepatitei B într-o colectivitate.

al izbucnirii și este constituit de habitatul natural al virusului în perioada dintre epidemii. Virusurile fiind paraziți obligatorii pentru gazde vii, sursă de infecție pot fi omul, animal sau artropod infectat clinic aparent sau inaparent. De importanță epidemiologică deosebită sînt purtătorii cronici, persistenți sau intermitenți (ex. : cu AgHBs), aparent sănătoși. Artropodul-rezervor, de exemplu căpușa *Ixodes*, multiplică arbovirusuri care supraviețuiesc metamorfozei și se transmit prin ou la următoarea generație de căpușe.

Unele viroze, ca de exemplu acele cauzate de arbovirusuri, sînt „boli cu *focalitate naturală*" : virusul infectează multiple specii de vertebrate în natură fiind transmis de la un animal la altul prin intermediul artropodelor hematofage; omul este contaminat accidental, de regulă prin înțepătura artropodului infectat care este vector biologic.

Virusurile difuzează din rezervor pe diferite căi :

(i) *prin orificii naturale* ca de exemplu nas (gripă), gură (parotidită, rabie), anus (enterovirus, poliovirus, hepatită A), uretral (adenovirus canin), glandă mamară (adenocarcinom murin) ;

(ii) *din organe superficiale* ca pielea (exantem cu poxvirus) și mucoase (vezicule cu herpesvirus) ;

(iii) *din sisteme sau organe profunde* cum sînt sîngele (hepatită tip B, arbovirusuri), creier (boala Kuru), mușchi (febră aftoasă ; exantem vezicular).

b) **Transmiterea virusului.** Transmiterea virusului la o gazdă poate fi :

(i) *directă* (contact fizic nemijlocit al tegumentelor sau mucoaselor, ori prin picături infectante emise prin strănut, tuse, proiectate direct pe tegumente sau mucoase) ;

(ii) *indirectă* prin intermediul unui *vehicul* (materiale neanimate contaminate ca de exemplu : alimente (moluște) și apa în hepatita A, lapte de capră consumat nefiert în encefalita centrală europeană, pulberi în variolă, sînge și derivate în hepatita tip B etc.) sau a unui *vector* animat, în primul rînd artropode care pot fi transmițători *mecanic* (ex. : musca transmite pasiv enterovirusuri) sau *biologic* (cînd virusul multiplică în țesuturile vectorului ca de exemplu arbovirus la căpușe, țînțari și care prin înțepătură îl inoculează unei gazde). Sezonalitatea ciclurilor vitale și obiceiurile de hrănire a artropodelor vectori biologici influențează direct epidemiologia arbovirozelor.

Expresia epidemiologică este relativ tipică în infecțiile virale acute, productive, cu transmitere orizontală și cu incubație și expresie clinică relativ constante ceea ce permite stabilirea cu destulă precizie a relațiilor rezervor—vector—gazdă prin metodele de lucru clasice ale investigației epidemiologice.

În infecțiile virale cu incubație lungă și foarte variabilă, ca de pildă hepatita virală tip B, aspectele epidemiologice sînt modificate și stabilirea relației rezervor—vector—gazdă trebuie să se bazeze pe date de laborator ca de exemplu : decelarea AgHBs, AgHBc și dinamica anticorpilor specifici corespunzători, anti-HBs și anti-HBc. Se pot evidenția astfel epidemii de cabinet de tratamente prin acupunctură (Anglia, 1978), de folosire în comun a seringii, în centre de hemodializă etc.

În infecții virale cronice, persistente sau lente cu incubație lungă, evoluție insidioasă și, eventual, transmitere verticală alternată cu transmitere orizontală și legată sau nu de predispoziție genetică, metodele cercetării epidemiologice sînt în curs de elaborare (ex. : malformații congenitale, tumori maligne virale etc.).

c) **Populația gazdă**. Grupele de persoane, care trăiesc într-un cadru delimitat în spațiu și timp (ex. : sat, oraș, cartier), prezintă caracteristici structurale demografice care se modifică în timp și care sînt de un interes deosebit pentru epidemiologia virozelor. Astfel, ca și individul, populația are un ciclu de dezvoltare (diferențiere, creștere, maturare, staționare, îmbătrînire, declin și chiar moarte) ceea ce îi conferă un anumit profil dinamic al structurii pe grupe de vîrste („piramida populației"), efectul numeroșilor factori care influențează dinamica populațiilor (fig. 275, 276).

În consecință, grupări de populații cu structuri demografice diferite (tinere, bătrîne) pot coexista influențîndu-se reciproc și, pe de altă parte, o populație dată își poate modifica în timp relativ scurt structura demografică.

Distribuția în timp și spațiu a grupelor de vîrste și modificarea ei continuă prin nașteri, decese și migrații au răsunet asupra epidemiologiei infecțiilor virale prin aceea că induce modificarea continuă a *stării de imunitate* (deci a stării de receptivitate) la infecție a diferitelor subgrupe de populație.

(i) *Efectul de „imunitate de grup"* („*herd immunity*").

„Imunitatea de grup" este „rezistența unui grup la atacul unei boli față de care o proporție din membrii grupului sînt imuni și prin aceasta sînt micșorate posibilitățile ca un bolnav contagios să vină în contact cu o persoană receptivă". Cu alte cuvinte, „imunitatea de

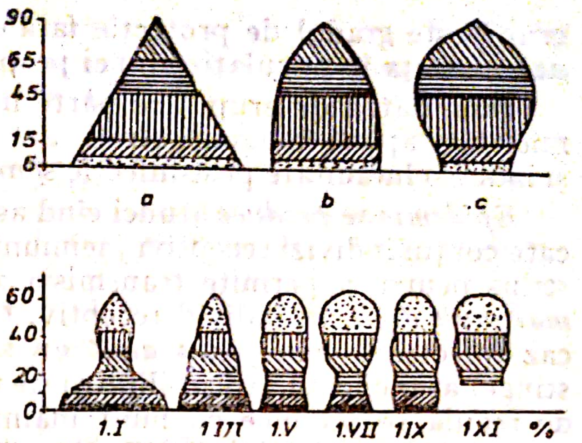


Fig. 275 : Distribuția claselor de vîrste în populații care evoluează, factor esențial în epidemiologia virozelor.

Sus: La om (pe ordonată vîrsta în ani) ; *a* : populație în creștere numerică ; *b* : populație staționară ; *c* : populație în declin numeric.
Jos : La albină (pe abscisă procentul din totalul populației în diferite luni ale anului ; pe ordonată vîrsta în zile) (*Stugren, B.*)

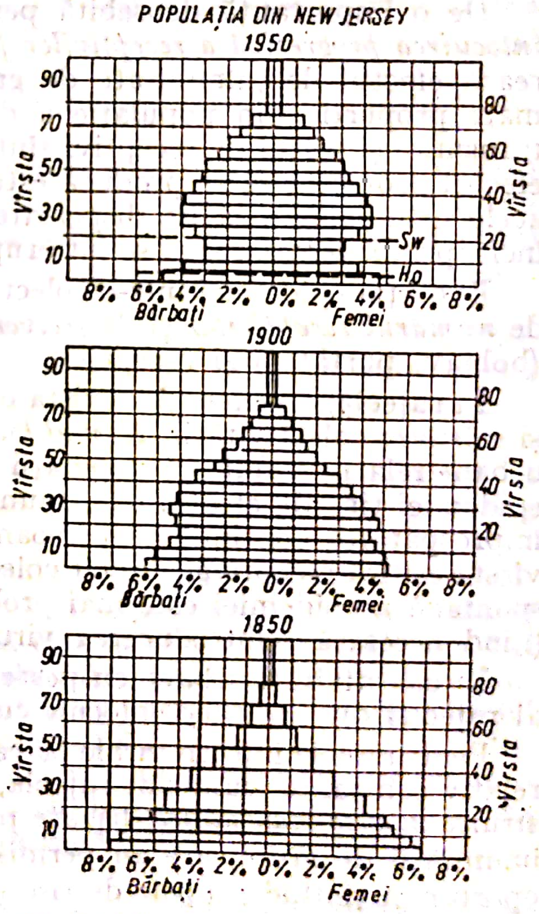


Fig. 276 : Distribuția pe vîrste și sexe a populației din New Jersey în 1850, 1900 și 1950 (Brush, J.E.).
Sus : Poziția în 1950 a limitelor inferioare pînă la care se păstrează memoria imunologică a contactului cu virusul gripal „porcin" (*Hsw1*) și respectiv, *Ho*.

grup" este gradul de protecţie faţă de îmbolnăvire a celor neimuni conferit de existenţa în populaţie a unei proporţii de imunizaţi.

Imunitatea de grup face parte integrantă din teoria statistică a epidemiei şi se aplică la agenţi virali care se transmit direct de la gazdă la gazdă şi induc o imunitate post-infecţie semnificativă şi durabilă.

Epidemie se produce atunci cînd asemenea virus este introdus în populaţii care conţin indivizi receptivi (neimunizaţi) care se află în contact suficient de strîns pentru a permite transmisia agentului de la fiecare nou infectat *la mai mult decît un* individ receptiv. *Curba epidemică scade* dacă fiecare nou caz infectează *mai puţin decît un* susceptibil şi *izbucnirea se termină* (se stinge) atunci cînd probabilitatea de transmitere se apropie de zero (ceea ce de regulă se produce cu mult înainte de epuizarea stocului disponibil de receptivi din colectivitate).

Cauzele concrete ale declinului şi terminării epidemiei sînt multiple ca de exemplu *modificări sezoniere* ale factorilor de mediu (în special umiditate, temperatură) care afectează atît *viabilitatea virusului* în mediul extern cît şi comportamentul gazdelor receptive (de ex.: joaca pe afară în vacanţă; viaţa ritmică de interior în şcoală etc.) şi care influenţează direct caracterul şi *frecvenţa contactului infectant.*

De o importanţă deosebită pentru încetarea izbucnirii epidemice este *înlocuirea progresivă a receptivilor prin imunizaţi* (nereceptivi) ceea ce generează efectul de „imunitate de grup": în momentul cînd o suficient de mare proporţie din populaţie a devenit imună, virusul nu se mai poate transmite şi restul de receptivi sînt protejaţi (scutiţi de infecţie). Pentru ca efectul protector să se producă este însă necesar ca persoanele imunizate şi acele neimunizate să fie dispersate în aşa fel (în amestec relativ omogen) încît, prin intercalare, să se întrerupă lanţul de transmitere a infecţiei.

Evoluţia epidemiei într-o colectivitate este deci reglată în ultimă analiză de *numărul receptivilor* şi de *frecvenţa contactelor* între persoanele infectante (bolnav, purtător) şi receptivi.

În rujeolă, de exemplu, există o relaţie între *periodicitatea* îmbolnăvirilor şi *mărimea* colectivităţii. *Ritmul bienal* este caracteristic pentru colectivităţi urbane relativ stabile cu populaţii pînă la 200—300 000 locuitori. Stingerea epidemiei ţine de efectul de „imunitate de grup" şi recurenţa epidemiei de împrospătarea continuă cu persoane receptive (copii care cresc ajungînd la vîrsta critică receptivă). Cu cît colectivitatea este mai mică cu atît stingerea spontană a epidemiei este mai probabilă şi intervalul între epidemii creşte (fiind necesară reintroducerea virusului din afară).

În colectivităţi urbane cu peste 250—300 000 locuitori caracterul bienal al rujeolei dispare fiind înlocuit cu morbiditate endemică de nivel ridicat.

Pentru unele infecţii virale cu caracteristici bine cunoscute şi manifestări relativ constante (cum sînt rujeola, parotidita epidemică), au putut fi construite *modele matematice,* bazate pe teoria probabilităţii aplicată la efectul imunităţii de grup, care au permis programarea vaccinărilor la momentul oportun şi ţintind grupele de risc (tab. 124).

— În rujeolă, un program permanent de vaccinare anuală (cu vaccin viu atenuat) a cel puţin 90% din populaţia receptivă (copii la 12—18 luni vîrstă) este necesar pentru a se menţine numărul de receptivi sub pragul

Tabelul 124

Distribuția după mărime a 100 epidemii simulate la 100 copii într-o colectivitate de familii, în grupe de joacă și într-o grădiniță de zi[1]

Grup de amestec	Rata (frecvența) contactelor în grup	Număr de epidemii cu numărul indicat de cazuri						Număr de cazuri	
		1	2	3	4–9	10–39	40–79	Media	maxima
Comunitate	0.002	82	15	2	1	—	—	1	4
Comunitate Familii	0.002 0.005	22	18	34	25	1	—	3	16
Comunitate Familii Grup de joacă	0.002 0.005	11	6	26	46	2	—	4	33
Comunitate Familii Grup de joacă Grădiniță	0,002 0.005 1.000 1.000	23	4	—	—	—	73	45	73

[1] Cei 100 de copii susceptibili și cazul inițial au fost în 62 familii cu 1 pînă la 3 copii (media 1.6) și în 24 grupe de joacă cu pînă la 10 copii (media 4.2). Cazul inițial a fost într-o familie cu 3 copii și într-un grup de joacă de 5 copii ce nu frecventa grădinița, însă cei 2 frați frecventau o grădiniță cu 40 de susceptibili.

la care epidemiile sînt probabile. Numai în asemenea condiții se obține rezultatul așteptat de analiza cost/beneficiu *.

În țările în curs de dezvoltare (ex. : în unele zone din Africa unde rujeola se situează între primele cauze de mortalitate infantilă) este necesară vaccinarea de două ori pe an și începînd de la vîrsta de 6—9 luni a cel puțin 80—85% din susceptibili pentru a se obține coborîrea morbidității sub pragul epidemic.

Odată instituit, programul de vaccinare trebuie menținut nedefinit. Întreruperea vaccinării sau reducerea procentului de vaccinați sînt urmate de izbucniri neobișnuit de severe, cu modificarea distribuției sezoniere și a incidenței pe grupe de vîrste.

— Variola; spre deosebire de rujeolă are o incidență mai redusă de aceea lanțul de transmitere poate continua mult prelungit în timp și să dea epidemii care nu „se sting" spontan.

Începînd din 1968 a fost declanșată, sub egida OMS, acțiunea de eradicare a variolei pe plan mondial prin atacul cu mijloace specifice (vaccinare) asupra transmisiei în perioada cînd boala este la nivelul cel mai coborît și țintit în focarele epidemice (surse). Rezultatul acțiunii a constat în eradicarea treptată a variolei pe toate continentele cu excepția „Cornului Africii" și anume în Somalia unde, la 26 octombrie 1977, a fost înregistrat ultimul caz de variolă. Întrucît în următorii doi ani, adică pînă la sfîrșitul anului 1979, nu s-au mai înregistrat îmbolnăviri, în noiembrie 1979 a fost certificată eradicarea mondială a variolei umane **.

---

* Acțiunile profilactice, ca dealtfel oricare altă componentă a acțiunilor medicale de păstrare sau recuperare a sănătății sînt, din punct de vedere economic, investiție și nu consum.

** Persistă pericolul izbucnirilor cu virus variolic uman conservat în laboratoare (de ex. evenimentul din aug.-sept. 1978 în Anglia) ceea ce impune distrugerea tuturor tulpinilor din colecții.

— Rubeola prezintă un interes prioritar prin malformațiile congenitale pe care le poate induce. Accentul se pune pe vaccinarea post-pubertală. Aceasta presupune identificarea femeilor susceptibile (prin teste serologice) și vaccinarea ne-gravidei în vîrstă de graviditate potențială. Vaccinul fiind viu atenuat sarcina este contraindicată timp de 3 luni după vaccinare.

(ii) *„Păcatul originar antigenic"*

Doctrina „păcatului originar antigenic", termen creat în 1953 de Francis, definește răspunsul caracteristic în anticorpi la infecții repetate în cursul vieții cu virusuri gripale de subtipuri antigenice diferite. Astfel, după infecția cu un virus posedînd *o nouă hemaglutinină* se produc anticorpi inhibitori care reacționează nu numai cu noua tulpină ci și cu virusul care a determinat primul stimul antigenic la subiectul în cauză. Anticorpul față de noua tulpină poate fi îndepărtat prin adsorbție cu virusul la care subiectul a fost expus pentru prima oară în viață, pe cînd adsorbția cu tulpina recentă îndepărtează numai anticorpii față de aceasta.

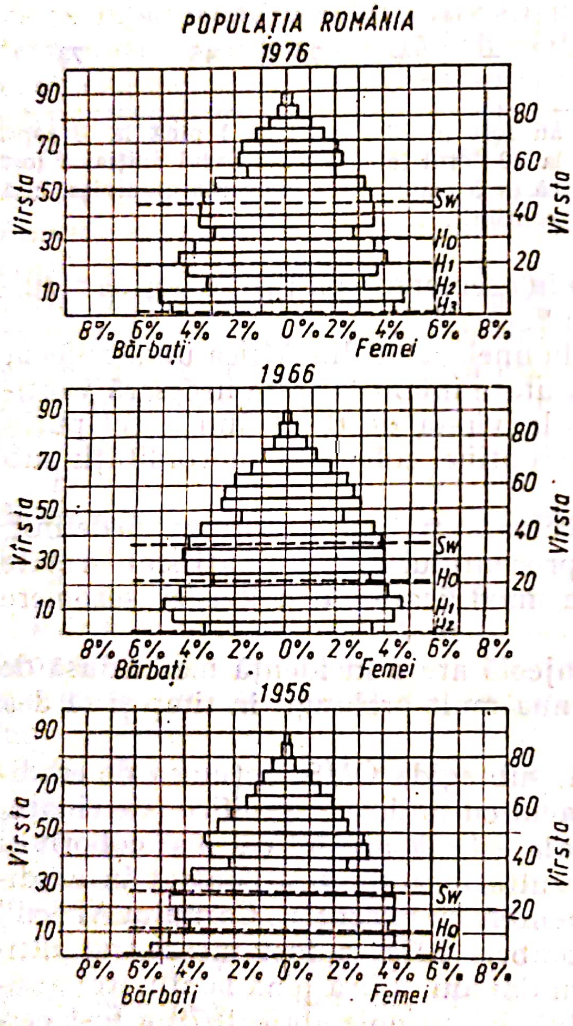


Fig. 277 : Distribuția pe vîrste și sexe a populației din România în 1956, 1966 și 1976 și pozițiile în anii respectivi a limitelor inferioare a posesorilor de memorie imunologică („amprente serologice") față de virusurile gripale de tip A : Hsw1, Ho, H1, H2 și H3. Gradientul stratificat de imunitate antigripală se modifică necontenit, în raport cu factorul timp.

Amprenta serologică față de tulpina de virus a „păcatului originar antigenic" este cel mai puternic imprimată (ca procent de purtători și ca înălțime a titrului anticorpilor) riguros în funcție de vîrstă : Hsw1N1 la cei născuți între 1918 — 1930, HON1 la persoane născute între 1930—1947, H1 N1 la cei născuți între 1947— 1957, H2N2 la născuții între 1957—1968 și H3 N2 la cei născuți între 1968—1979.

1) *Gradientul stratificat de imunitate antigripală.* Amprenta „păcatului originar" se păstrează întreaga viață și se amplifică treptat prin repetarea infecțiilor cu noile subtipuri antigenice de virus gripal care se succed.

Se construiește astfel un *„gradient etajat de imunitate"* în populație.

Baza imunologică a acestui fenomen a fost recent elucidată : este datorat stimulării, prin antigen cu reactivitate încrucișată prezent în noua tulpină, a unei subpopulații de *limfocite B-memorie* constituită și amplificată numeric de stimulul antigenic primar.

Date recente demonstrează că fenomenul păcatului originar antigenic operează și în răspunsul imun față de *neuraminidaza* virusului gripal. De fapt, fenomenul este probabil general și intervine atunci cînd la o aceeași persoană în cursul vieții se repetă infecții cu virusuri de aceeași specie prezentînd însă multiple tipuri antigenice. Fenomenul a fost reprodus experimental și cu serii de antigene chimic definite (bacteriene etc.).

Difuziunea mondială rapidă a infecției gripale cu noi virusuri A (pandemii) are ca urmare faptul că structura gradientului de imunitate este practic similară pe toate continentele.

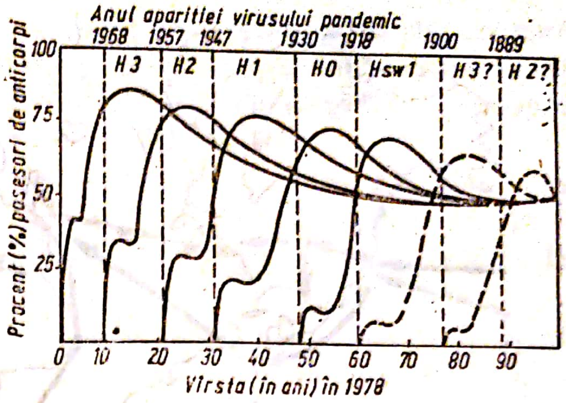


Fig. 278 : Reprezentarea schematică a caracteristicii structurale a „gradientului" de imunitate antigripală a populației din Moldova în anul 1978.

Structura etajată a gradientului de imunitate este rezultatul schimbării succesive, la intervale de 10—12 ani, a subtipurilor de virus gripal uman A purtătoare de hemaglutinine diferite în ordinea următoare : →Hsw1 (1918) → H0 (1930) → H1 (1947) → H2 (1957) → H3 (1968) → H1 (1977) →.

2) *Dinamica gradientului de imunitate și reciclarea subtipurilor de virus gripal.* Studii efectuate în Moldova începînd din 1963, ca și cercetări efectuate în alte țări, au demonstrat modificarea continuă a „gradientului de imunitate" antigripală prin deplasarea amprentelor serologice spre vîrful piramidei populației sincron cu înaintarea în vîrstă a contingentelor de populație purtătoare a memoriei imunologice a „păcatului originar antigenic".

În stadiul cînd o anumită amprentă este pe cale de dispariție (cînd procentul de purtători scade sub valoarea critică *) se creează condițiile permisive pentru reciclarea subtipului respectiv de hemaglutinină.

Există dovezi seroepidemiologice despre *reciclarea* periodică a subtipurilor de virus : astfel, H2 și H3 ar mai fi circulat cu respectiv 7—8 decenii anterior iar în 1977 a reintrat în circulație virusul H1 care a determinat îmbolnăvirile de gripă în urmă cu 3 decenii, în perioada 1947—1956.

3) *Originea geografică a noilor subtipuri pandemigene de virus gripal.* Analiza retrospectivă a descripțiilor, privind apariția și evoluția pandemiilor gripale din ultimul secol (OMS), indică drept origine un teritoriu situat în extremul orient al zonei cu climă temperată din emisfera nordică. Este stabilit cu certitudine, că noile subtipuri pandemigene din 1957 (H2), 1968 (H3) și 1977 (H1) au apărut în China, într-o zonă temperată cu populație numeroasă și dintre cele mai dense pe glob și cu o frecvență a contactelor neobișnuit de mare. Ca o consecință directă, în asemenea tip de populație periodicitatea epidemiilor gripale este mai scurtă decît în alte zone pe glob și prin imunizarea post-infecție a populației se atinge mai repede pragul

---

* Ca rezultat a unui proces demografic natural (decese), la care se pot adăuga uneori evenimente neobișnuite (epidemii grave, război, alte calamități).

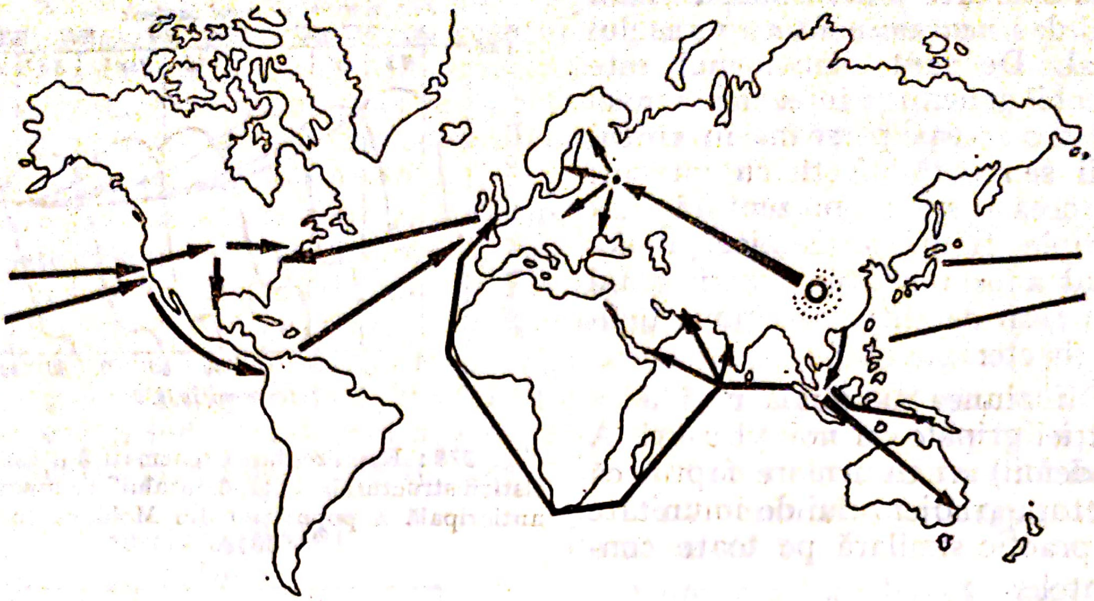


Fig. 279 : Diagramă reprezentînd difuzarea infecției în cursul pandemiilor gripale din 1957 (H2), 1968 (H3) și 1977—1978 (H1).

Originea geografică este situată în aceeași arie din zona cu climă temperată din emisfera nordică. (Factori cum sînt densitatea populației, distribuția pe vîrste, frecvența contactelor etc., pot explica satisfăcător acest fapt.)

critic permisiv pentru apariția noilor subtipuri care, de aici, difuzează pe întreg globul dezlocuind varianta precedentă *.

Răspunsul la întrebarea de ce în 1977—1978 a reintrat în circulație H_1 în loc de virusul așteptat Hsw1 (sau unul nou H_4?) ar putea fi legat de o structură pe grupe de vîrste cu totul particulară a populației din zona de origine adică o prevalență covîrșitoare de populație tînără (fig. 275, 276, 277).

Faptele amintite demonstrează că între procesul variației naturale antigenice a virusurilor gripale și starea de imunitate specifică a populației gazdă există relații dialectice de interdependență : virusul prin activitate epidemigenă imunizează gazda iar gazda modificată imunologic obligă virusul să se schimbe antigenic ș.a.m.d.

Identificarea și quantificarea tuturor factorilor care participă și condiționează automișcarea acestei unități dialectice va permite, ca și pentru rujeolă de exemplu, elaborarea de modele matematice simulate, cu valoare de previziuni. În explicarea procesului variației naturale antigenice a virusului gripal uman nu este deci necesară intervenția de forțe externe adică existența unui rezervor animal.

4) *Strategia profilaxiei specifice a gripei.* Sub egida OMS programul de supraveghere a circulației virusurilor gripale este executat astăzi de 98 centre naționale situate în 70 țări pe întreg globul cu scopul de a se identifica apariția noilor variante potențial epidemigene sau pandemigene cît mai aproape de momentul maturării lor. Aceasta va permite să se prepare vaccinuri cu noul virus în cantități cît mai mari și administrarea lor în timp util, înainte

---

* Pentru rațiuni similare, noile subtipuri de virus gripal ecvin (ex. : Heq2 în 1963) apar în Argentina, în prezent zona cu cea mai densă populație gazdă viețuind în condiții ecologice quasi-naturale, și de aici difuzează în restul populației equine.

de izbucnirea epidemiei, cu prioritate la grupele de populaţie cu risc crescut de infecţie severă, letală (bătrîni, persoane cu boli cronice cardio-respiratorii etc.) sau grupe profesionale de interes deosebit în colectivitate (ex. : personal medical, din transporturi, ramuri de industrie etc.).

Cu condiţia să existe corespondenţă antigenică între vaccin şi virusul din epidemie, vaccinurile *inactivate* actuale induc, după 28 zile, rezistenţă satisfăcătoare la 80% din vaccinaţi, iar vaccinurile *vii-atenuate*, după 3 zile, la 95% din vaccinaţi*.

Tineretul şcolar, prin circulaţia zilnică între familie şi şcoală, constituie o grupă de populaţie numeroasă şi cu o mare frecvenţă de contacte infectante. Ca urmare, aceştia se află în prima linie de victime ale gripei cu un nou virus şi, prin aceasta, sînt transmiţători activi ai infecţiei în familie şi colectivitate. Experienţa a arătat că vaccinarea gripală a 90% din copii de vîrstă şcolară în perioada pre-epidemică reduce cu 80% morbiditatea în întreaga populaţie, inclusiv la adulţii nevaccinaţi din colectivitate, ca urmare a efectului „imunităţii de grup".

3. METODE DE COMBATERE

Pe baza identificării agenţilor etiologici ai îmbolnăvirilor se elaborează programele de combatere care se adresează verigii celei mai slabe din lanţul epidemic, prin acţiuni care se pot adresa : (i) rezervorului, (ii) mediului ambiant, vehiculului sau vectorilor şi (iii) creşterii rezistenţei gazdei.

a) Măsurile care se adresează **rezervorului** pot, după caz, să se concretizeze în :

(i) *eradicarea* rezervorului animal (ex. : sacrificarea bovinelor infectate cu tuberculoza bovină, febra aftoasă),

(ii) *tratamentul* corect al bolnavilor şi purtătorilor,

(iii) *segregarea* cazurilor clinice pe perioada infecţiozităţii,

(iv) *carantinarea*.

b) Măsurile care se adresează **mediului ambiant** constau în dezinfecţie, dezinsecţie, deratizare şi instituirea de norme privind modul de construcţie şi de funcţionare a locuinţei şi localurilor publice, a facilităţilor necesare şi suficiente pentru muncă, alimentaţie şi odihnă în condiţii de păstrare şi întărire a rezistenţei la infecţie.

c) **Creşterea rezistenţei specifice a gazdei** se realizează prin imunizare activă şi, numai în situaţii excepţionale, pasivă.

---

* În lumina datelor menţionate despre variaţia naturală antigenică a virusurilor gripale umane, se impune concluzia că, în prezent, vaccinarea sistematică a întregii populaţii nu este de dorit întrucît şi-ar autoanula efectul. Din acest p.d.v., vaccinarea antigripală cu vaccin monovalent este o situaţie unică.

BIBLIOGRAFIE

1. BARTLETT M.S. : Measles Periodicity and Community Size. *J.R. Statist. Soc.*, A., *120*, 48—70, 1957.
2. COLLIS P.B., DUDDING B.A., WINTER P.E., RUSSELL P.K., BUESCHER E.L. : Adenovirus Vaccines in Military Recruit Populations : A Cost-benefit Analysis. *J. Infect. Dis.*, *128*, 6, 745—752, 1973.
3. COREY L. : Nationwide Outbreak of Reye Syndrome. *Ann. J. Med.*, *61*, 615—625, 1976.
4. COUROUCÉ-PAUTY, A.-M., SOULIER J.P. : Further Data on HBs Antigen Subtypes-Geographical Distribution. *Vox Sang.*, *27*, 533—549, 1974.
5. DONLE W. : Über den Jahresgang der Masern und anderer Kinder Krankheiten. *Infection*, *1*, 187—191, 1973.
6. DITTMANN S., STARKE G., OCKLITZ H.W., GRAHNEIS H., GIESEKE H. : The Measles Eradication Programme in the German Democratic Republic. *Bull. Wld Hlth Org.*, *53*, 1, 21—24, 1976.
7. FOEGE W.H., EDDINS D.L. : Mass Vaccination Programs in Developing Countries. *Progr. Med. Virol.*, *15*, 205—243, 1973.
8. GREENVALT T.J., JAMIESON G.A. (Eds.) : *Transmissible Disease and Blood Tranfusion*. Grune & Stratton, New York, 1974.
9. HORSTMANN D.M. : Controlling Rubella : Problems and Perspectives. *Ann. Intern. Med*, *83*, 412, 1975.
10. HOUSWORTH J., LANGMUIR A.D. : Excess Mortality from Epidemic Influenza, 1957—1966. *Am. J. Epidemiol.*, *100*, 1, 40—48, 1974.
11. JACKSON G.G., MOLDOON R.L. : Viruses Causing Common Respiratory Infections in Man. *J. Infect. Dis.*, *127*, 328—355 ; 387—469 ; 674—702 ; 811—871, 1973.
12. KATZ R., RODRIGUEZ J., WARD R. Post-transfusion Hepatitis. Effect of Modified Gamma Globulin Added to Blood *in vitro*. *N. Engl. J. Med.*, *285*, 925, 1971.
13. KENDAL A.P., MINUSE E., MAASSAB, H.F., HENNESSY A.V., DAVENPORT F.M. : Influenza Neuraminidase Antibody Patterns of Man. *Amer. J. Epidemiol.*, *98*, 2, 96—103, 1973.
14. KILBOURNE E.D. : The Molecular Epidemiology of Influenza. *J. Infect. Dis.*, *127*, 4, 478—486, 1973.
15. KILBOURNE E.D.: Influenza Pandemics in Perspective. *J.A.M.A.*, *237*, 12, 1225—1228, 1977.
16. KONO R., SASAGAWA A., ISHII K., SUGIURA A., OCHI M., MATSUMIYA H., UCHIDA Y., KAMEYAMA K., KANEKO M., SAKURAI N. : Pandemic of New Type Conjunctivitis. *Lancet*, *1*, 1191—1194, 1972.
17. MELNICK J.L., DREESMAN G.R., HOLLINGER F.B. : Approaching the Control of Viral Hepatitis Type B. *J. Infect. Dis.*, *133*, 2, 210, 1976.
18. MORLEY D. Pediatric Priorities in Evolving Community Programmes for Developing Countries. *Lancet*, *2*, 1012, 1976.
19. REEVES W.C., PETERS C.J. : The Seroepidemiology of Reovirus, Coxsackie Virus B and Hepatitis B Virus Infections among Panamaniau Indian Children. *J. Infect. Dis.*, *133*, 3, 268—273, 1976.
20. SCHOENBAUM S.C., COLEMAN M.T., DOWDLE W.R., et all. : Epidemiology of Influenza in the Elderly : Evidence of Virus Recycling. Am. J. Epidemiol., *103*, 166, 1976.
21. SINGER S.F. : Emission Standards : Costs and Benefits. *Science*, *186*, 689, 1974.
22. STOCKES J. Jr. : Usefulness of Immune Serum Globulin in Viral Hepatitis. *N.Engl. J. Med.*, *285*, 17, 967, 1971.
23. WORLD HLTH ORG. : Acupuncture — associated Hepatitis. W.H.O., *Wkly epidem. Rec.*, *53*, 7, 46, 1978.

XLIX. VACCINURI VIRALE. SEROPROFILAXIE

A. CRITERIILE VACCINOPROFILAXIEI VIROZELOR

Îmbolnăvirile prin virusuri la om și animale cauzează mari prejudicii stării de sănătate prin creșterea mortalității și a morbidității acute și cronice și, de asemenea, pierderi considerabile de ordin economic.

Cel mai eficient, realizabil și economic rentabil mijloc de a lupta împotriva virozelor este imunizarea artificială activă a persoanelor receptive, *vaccinarea.*

Principial, orientarea în obținerea de vaccinuri eficiente constă în reproducerea, cît mai asemănător posibilă, a condițiilor imunogenezei din infecția subclinică, inaparentă, adică *modul natural* de imunizare antivirală. Cunoașterea modelului natural al patogenezei, imunogenezei și istoriei naturale (ecologiei) virusului, pe de o parte și a microanatomiei și geneticii virusului pe de alta, sînt elementele indispensabile pentru alegerea antigenelor imunizante și elaborarea strategiei vaccinării.

a) **Inocuitatea.** Prima condiție, eliminatorie, pe care trebuie să o îndeplinească un preparat destinat utilizării ca vaccin este aceea de a nu produce efecte dăunătoare sănătății, imediate sau tardive, atît la persoana vaccinată cît și la contacții acesteia, inclusiv embrionului în dezvoltare.

b) **Norme de preparare și control.** Vaccinurile virale autorizate pentru administrare la om pînă în prezent sînt vaccinuri pentru prevenirea variolei, febrei galbene, encefalitei de căpușă, poliomielitei, rujeolei, rubeolei, parotiditei epidemice, turbării și gripei, preparate după norme tehnologice riguros stabilite și controlate în ceea ce privește inocuitatea și eficacitatea.

Sînt imperios necesare vaccinuri în hepatitele virale tip A și tip B și de asemenea pentru alte viroze acute majore ale tractelor respirator și digestiv, care sînt cauze majore de morbiditate și cauze majore de mortalitate, în particular la sugar și copilul mic, ca de exemplu virus RS, adenovirus, reovirus, virus paragripal tip 1, rhinovirus etc.

c) **Antigene imunogene eficace.** Cel mai înalt și durabil grad de imunitate antivirală îl conferă vindecarea de infecția severă. O imunitate apreciabilă similară induce și infecția subclinică, inaparentă. Antigenul sau antigenele implicate în producerea stării de imunitate, adică a răspunsului imun eficace pentru protecție față de reîmbolnăvire, sînt plasate pe suprafața virionului și sînt în principiu legate de determinante antigenice prezente pe acele componente virale prin care se realizează atașarea virionului la receptorii celulei gazdă.

În consecință, vaccinul trebuie să conțină antigene[*] imunogene[**] eficace[***] pentru protecție.

Rezultă că apariția de anticorpi în serul persoanelor vaccinate *(seroconversia)* are valoare indicatoare și pentru eficacitatea răspunsului imun indus de un produs considerat imunizant numai în măsura în care acești anticorpi sînt capabili să intercepteze și să neutralizeze virusul „sălbatec" în drumul spre organul sau organele-țintă. În ultimă instanță, certitudinea obținerii unui efect favorabil prin vaccinoprofilaxie este dată numai de aplicarea în populație și înregistrarea îmbolnăvirilor în lotul vaccinat în comparație cu lotul martor nevaccinat[****].

d) **Modelul natural al răspunsului imun**. Strategia vaccinoprofilaxiei se bazează pe simularea modelului natural al răspunsului imun.

Imunitatea locală a tractului respirator și tractului intestinal, constînd în principal din : (i) *anticorpi secretori* (sau dimerici) 11S IgA secretați de celule plasmatice situate în submucoasă și, cel puțin pentru tractul respirator, din (ii) *un sistem imun mediat celular local,* independent de imunitatea mediată celular sistemică. Aceste mecanisme joacă rolul major în protecția organismului față de virusuri care au atît ca poartă de intrare cît și ca organ-țintă mucoasele respective (ex. : virusul paragripal tip 1, rhinovirus, virusul respirator sincițial și, probabil, virusul gripal, ca și unele virusuri cauzînd gastroenterita acută cum sînt reovirusuri ș.a.).

Este încă neclar dacă anticorpul local sau răspunsul imun celular local este mai important ori ambele. Posibil, sînt variații în raport de virus și etajul infectat.

Imunitatea sistemică, constînd din anticorpi serici circulanți și/sau imunitatea mediată celular, asigură protecția față de boala produsă de virusuri care dau infecții sistemice difuzînd pe cale circulatorie spre organul-țintă (ex. : poliomielita, hepatita A, rujeola, boala primară cu virusul varicela-zoster). În unele infecții diseminate cu poartă de intrare orală sau respiratorie și în care imunitatea sistemică protejează față de boală, imunitatea locală alimentară sau respiratorie poate avea de asemenea un rol însemnat în rezistența la reinfecție (așa cum este de ex. în *rubeolă).*

Dacă schema de vaccinare preconizată nu stimulează acel tip anume de răspuns imun care deține rolul major în protecția gazdei față de boală, vaccinarea este ineficace sau chiar dăunătoare datorită stimulării unui răspuns imun dezechilibrat, generator de procese imunopatologice. Astfel, *vaccinul cu virus respirator sincițial inactivat* administrat parenteral la copii determină un răspuns imun sistemic puternic manifestat prin titru înalt de anticorpi și o importantă imunitate sistemică mediată celular, în schimb nu induce răspunsul imun local protector. Ca rezultat, copiii vaccinați în acest fel sînt infectați de virusul „sălbatec" și fac o boală mult mai severă a tractului respirator inferior decît cei nevaccinați: răspunsul imun sistemic viguros este responsabil de fenomenul imunopatologic.

---

[*] *Antigenitatea* este capacitatea unui material de *a reacționa* cu produșii umorali și celulari ai unui răspuns imun ; un asemenea material se numește *antigen.*

[**] *Imunogenitatea* este capacitatea unui material de *a induce* un răspuns imun și un asemenea material se numește *imunogen.* Numai antigenul *complet* este și imunogen.

[***] Un vaccin este considerat *eficace* dacă antigenele imunogene din care este compus determină un răspuns protector față de infecția cu virusul „sălbatec" (care circulă în natură). Eficacitatea preparatelor se verifică în momentul administrării : *seroconversia* (apariția și creșterea titrului anticorpilor) indusă la vaccinați măsoară imunogenitatea preparatului ; *eficacitatea* se măsoară prin reducerea sau eliminarea îmbolnăvirilor (indicele de protecție). Nu orice preparat imunogen este neapărat și eficace.

Raționament similar stă la baza alegerii antigenelor virale și a reacțiilor destinate serodiagnosticului infecției.

[****] *Indicele de eficacitate* al unui vaccin se calculează după formula $\frac{R - I}{R} \times 100$, în care R = incidența îmbolnăvirilor la nevaccinați și neimunizați prin infecția naturală și I = incidența îmbolnăvirilor la vaccinați.

În același mod, *vaccinul rujeolic inactivat* administrat parenteral induce un răspuns imun sistemic umoral și celular important, în schimb rezistența locală este de relativ scurtă durată: copii infectați la 3—5 ani după vaccinare au făcut forme atipice severe de rujeolă manifestate prin raș maculopapular cu elemente peteșiale, urticariene, edem periferic, pneumonie bilaterală, lichid pleural, rezultînd din mecanism imunopatologic. (Organismul sensibilizat de vaccinul inactivat a răspuns precipitat la infecție prin anticorpi serici care, împreună cu virusul liberat în circulație au format complexe imune de unde leziunile vasculare, renale glomerulare, meningeale etc.). Asemenea accidente nu pot avea loc după vaccinul viu atenuat care simulează modelul natural de imunogeneză.

Un alt exemplu îl constituie infecția cu poliovirus: vaccinul inactivat stimulează producția de anticorpi serici și conferă protecția față de infecția sistemului nervos central în timp ce vaccinul viu administrat oral induce, în plus, și rezistența mucoasei alimentare la reinfecție.

Infecția respiratorie cu adenovirus se diferențiază de aceea cu celelalte virusuri respiratorii (myxovirusuri, rhinovirusuri etc.) prin aceea că protecția etajelor inferioare ale tractului este legată de anticorpi serici circulanți. De aceea, un vaccin viu cu adenovirus tip 4 sau tip 7, administrat în capsule enterale, a conferit anticorpi serici și protecție specifică față de boala acută respiratorie cauzată de tipul respectiv de virus deși vaccinul nu a indus și anticorpi locali.

e) **Evaluarea cost—beneficiu.** Administrarea vaccinurilor la populație este precedată de analiza amănunțită a costurilor reprezentate de prepararea și administrarea vaccinului și a beneficiilor realizate pentru starea de sănătate și situația economică a colectivității respective. Exemplul profilaxiei rujeolei cu vaccin este edificator.

Un proiect de program de vaccinare de lungă durată, formulat în 1972, realizabil în țările în curs de dezvoltare din America Centrală, a stabilit următoarele:

(i) cheltuielile imediate impuse de îngrijirea bolnavilor de rujeolă (constînd numai în costul spitalizării sau medicației la domiciliu și pierderilor în calorii) ajung la 4 milioane dolari ceea ce depășește cu mult costurile impuse astăzi de poliomielită, tuse convulsivă, tetanos și difterie luate împreună;

(ii) impactul economic direct al unui program țintind la reducerea cu 80% a rujeolei, integrat într-un program de vaccinare cu antigene multiple față de boli imunizabile selectate, este constituit de *economii anuale imediate* de 3,2 milioane dolari; evaluarea și a altor beneficii directe sau indirecte ca de exemplu evitarea pierderilor de zile de școlarizare și de zile de muncă necesitate de îngrijirea copilului bolnav și convalescent, evitarea costurilor speciale legate de întîrzierea în dezvoltarea mintală și de panencefalita sclerozantă subacută cauzate de rujeolă etc., vor mări cu mult cifra beneficiilor vaccinării antirujeolice.

B. TIPURI DE VACCINURI VIRALE

În raport cu starea virusului în vaccinuri destinate utilizării la om există (i) vaccinuri cu *virus viu-atenuat nepatogen*, (ii) vaccinuri cu virus matur, complet și neinfectant (neviu), așa-numite *vaccinuri omorîte* și (iii) vaccinuri cu *subunități virale structurale*. Atît tendința istorică cît și argumentele teoretice și practice sînt în favoarea vaccinurilor vii-atenuate.

1. VACCINURI VIRALE INACTIVATE

Vaccinurile virale omorîte sînt acelea în care virusul este făcut neinfectant prin acțiunea agenților fizici (căldură, iradiere cu ultraviolete) sau chimici (formol, fenol, betapropiolactonă). În condiții optime de *p*H, temperatură, concentrație, durată etc., acești agenți anulează infectivitatea (capacitatea de multiplicare a virusului) păstrînd mai mult sau mai puțin nemodificate imunogenitatea și eficacitatea.

— Anumite dezavantaje grevează folosirea vaccinurilor omorîte: (i) necesitatea certitudinii că *toate* particulele de virus din vaccin au fost inactivate; (ii) necesitatea a *concentrații mari de virioni* nealterați antigenic; (iii) conferirea unei imunități semnificative necesită *inoculări repetate* urmate de rapeluri episodice ceea ce poate induce efecte secundare supărătoare legate de sensibilizarea la proteine străine prezente în vaccin și, în plus, creează probleme organizatorice deosebite; (iv) vaccinarea parenterală determină apariția de anticorpi serici circulanți care conferă o protecție precară și de scurtă durată față de infecțiile virale localizate la mucoase (viroze respiratorii și enterice).

— Evitarea în parte, a unora dintre aceste inconveniente este posibilă prin: (i) utilizarea metodelor noi de purificare și concentrare a virusurilor (ex.: ultracentrifugarea zonală continuă care elimină mare parte din material străin) *; (ii) administrarea vaccinului inactivat la „poarta de intrare" pentru a stimula imunitatea locală (ex.: vaccin gripal dat în aerosoli intranazal); (iii) incorporarea vaccinului în adjuvanți imunologici pentru a se intensifica imunogenitatea și, eventual, economisi preparatul.

Există situații în care, deocamdată, nu se pot utiliza decît vaccinuri omorîte ca de exemplu în profilaxia gripei la bătrîni, bolnavi cronici, gravide și în profilaxia turbării la om.

---

* Recent, la Institutul Pasteur-Paris, a fost realizat un vaccin antirabic purificat prin centrifugare zonală în gradient de zaharoză din tulpina de virus „Pasteur" cultivată pe celule renale de făt bovin; vaccinul s-a demonstrat deosebit de imunogen, eficace și total areactogen (P. Atanasiu, 1977).

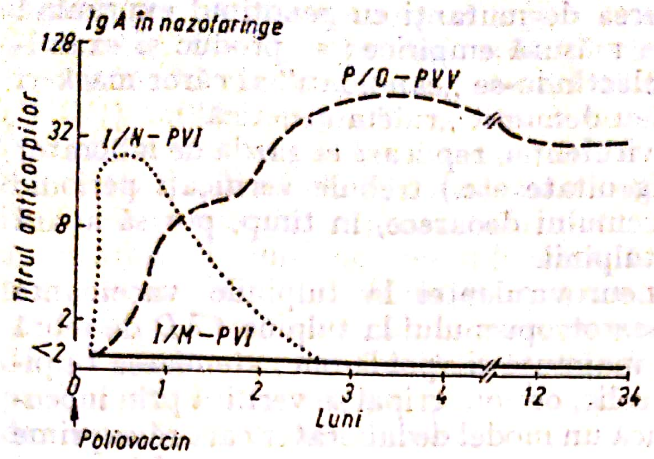


Fig. 280 : Caracteristicile răspunsului în IgA nazofaringeal la poliovirus după imunizare cu poliovaccin pe căi diferite :

PVV = poliovaccin viu, PVI = poliovaccin inactivat, P/O = per oral, I/N = intranazal, I/M intramuscular. (*Ogra, P.L.* și colab.)

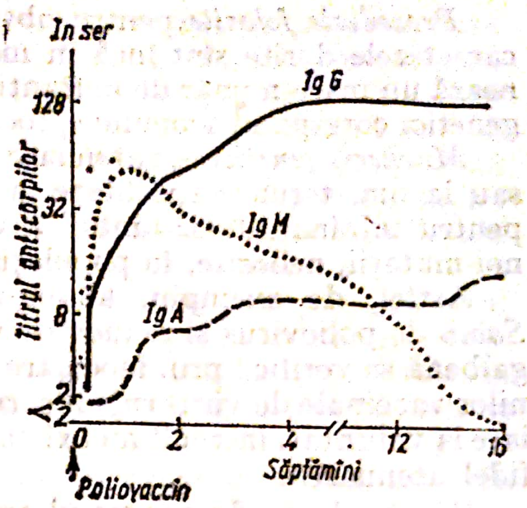


Fig. 281 : Secvența răspunsurilor în anticorpi serici IgM, IgG și IgA față de poliovirus după imunizarea primară cu vaccin viu atenuat. (*Ogra, P.L.* și colab.)

De asemenea, primele vaccinuri experimentale în hepatita virală tip A și tip B *, și eventual, cu virusuri umane tumorigene **, sînt sau vor fi preparatele cu virus inactivat.

2. VACCINURI CU VIRUS VIU ATENUAT

Vaccinurile atenuate au avantajul față de acelea inactivate prin aceea că acționează ca infecția naturală : (i) multiplică în țesuturile gazdei, (ii) stimulează producția de anticorp circulant și, de asemenea, (iii) induc rezistența locală la poarta de intrare, (iv) ambele persistă comparativ timp mult mai îndelungat, (v) rezultate care se obțin cu cantități de virus de 100—1000 ori mai reduse.

Vaccinuri vii atenuate sînt utilizate cu rezultate remarcabile în profilaxia variolei, febrei galbene, poliomielitei, rujeolei, rubeolei, gripei, parotiditei epidemice, unele arboviroze.

a) **Obținerea tulpinilor de virus.** Prepararea vaccinurilor se bazează pe utilizarea de mutanți obținuți din natură sau induși în laborator prin mutație sau/și recombinare, cu caractere genetic stabile și adecvate scopului : un antigen imunogen eficace lipsit de nocivitate.

Spre deosebire de vaccinurile *inactivate* pentru a căror preparare se selectează mutanți virali cu *mare potențial de multiplicare la gazda de laborator* (substratul folosit), în vederea obținerii de vaccinuri vii-atenuate se selectează mutanți cu *virulență atenuată pentru om.*

---

* Antigenul HBs inactivat, obținut prin purificare și concentrare din plasmă umană, administrat la cimpanzeu, determină imunitate față de infecția de probă cu virusul hepatitic tip B.

** Incidența tumorilor induse la șoarece de 3-methilcholantren este semnificativ redusă (de cca 2—3 ori) printr-o singură inoculare prealabilă de vaccin cu oncornavirus tip C (MuLV—R) inactivat. Acest rezultat sprijină ipoteza că oncornavirusurile tip C servesc ca determinanți în cancerele chimio-induse.

Procedeele folosite pentru obținerea de mutanți cu genotipul exprimînd caracterele dorite sînt încă în mare măsură empirice: se produc și examinează un mare număr de mutanți selectîndu-se ,,candidați" ai căror markeri genetici corespund scopului (procedeu denumit ,,ruleta genetică").

Markerii genetici (de atenuare a virulenței, replicare la gazda de laborator sau la om, termosensibilitate, antigenitate etc.) trebuie verificați periodic pentru tulpina ,,de sămînță" a vaccinului deoarece, în timp, pot să apară noi mutații, nedorite, în populația tulpinii.

Astfel, de exemplu, absența neurovirulenței la tulpinile vaccinante *Sabin* de poliovirus și reducerea viscerotropismului la tulpina *17 D* de febră galbenă se verifică prin inoculare la maimuță și apoi la om; atenuarea tulpinilor vaccinale de virus rujeolic, rubeolic, oreion, gripal se verifică prin inoculare la voluntari întrucît nu există încă un model de laborator care să exprime fidel atenuarea.

Recent, legat de progresul cunoștințelor cu privire la microanatomia și genetica virusurilor, se introduc metode care se bazează mai direct pe structuri și funcții implicate ceea ce permite, într-o măsură, monitorizarea proceselor genetice.

(i) *Recombinarea* (sau reasortarea segmentelor genomului viral) este folosită pentru obținerea în timp scurt a unui recombinant viral gripal tip A care să posede: a) capacitatea de a *multiplica intensiv* în embrion de găină deci să furnizeze o recoltă bogată de virioni și b) să poarte *hemaglutinina* dorită, aceea corespunzînd virusului ,,sălbatec" așteptat în epidemia față de care urmează a fi folosit vaccinul.

Această metodă permite scurtarea considerabilă a timpului de preparare a vaccinurilor gripale a căror eficiență epidemiologică, fie că sînt vaccinuri inactivate sau vii-atenuate, depinde în primul rînd și în foarte largă măsură de gradul de corespondență între structura antigenică a hemaglutininei din vaccin și aceea din virusul circulant în natură.

Practic se folosește o tulpină izolată în trecut și care a fost supusă unui mare număr de treceri pe embrion de găină (ex.: A/PR/8/34) a cărei genă sau gene care controlează primul caracter (multiplicarea intensă în embrion de găină) se transferă prin recombinare unei tulpini recent izolată care poartă gena pentru hemaglutinina virusului circulant.

În mod similar se pot obține recombinanți (hibrizi antigenici), purtători de *neuraminidază* (NA) a virusului gripal circulant, componentă virală structurală care se modifică la intervale de timp mai mari și în măsură mai redusă decît hemaglutinina.

Deși NA nu conferă rezistență față de infecție, poate totuși induce un grad de protecție față de boală. Un asemenea vaccin gripal, care induce imunitate față de NA, inoculat parenteral, nu elimină infecția, deci circulația virusului gripal în colectivitate, dar moderează semnificativ, chiar pînă la anulare, simptomele de boală.

Asemenea procedeu de vaccinare poartă denumirea de ,,*imunizare permisivă la infecție*" deoarece vaccinații fac infecția naturală fără să facă boala și ca urmare gradientul de imunitate antigripală a populației se construiește în continuare ca și în modelul natural.

Tehnica recombinării se folosește în special pentru prepararea de vaccinuri inactivate. Întrucît însă, trecerile îndelungate pe embrion de găină a unuia din părinți antrenează și atenuarea virulenței pentru om ca urmare a variației O—D, recombinantul ar putea folosi ca vaccin viu-atenuat.

Astfel de exemplu *recombinantul 64 D*, obținut din tulpina A/PR/8/34 (HON1) care este complet atenuată pentru om și tulpina A/Hong Kong/68 (H3N2), crește intens pe embrion de găină, posedă antigenele de suprafață dorite H3N2, multiplică în mucoasa nazofaringeană umană, dar este complet lipsit de patogenitate pentru om, induce seroconversie și imunitate locală apreciabile și durabile, nu difuzează la contacții persoanei vaccinate și trecerile succesive pe voluntari receptivi nu au indus reversia patogenității.

Recent a fost elaborat un test *in vitro*, marker pentru virulența față de om a tulpinilor candidați la vaccin viu-atenuat: corelația între virulența pentru om și capacitatea virusului de a opri activitatea ciliară în culturi de organ din trahee umană.

(ii) *Selecția de mutanți rezistenți la inhibitorii nespecifici* obținuți prin cultivare în prezența de ser de cal sau de cobai se asociază cu pierderea virulenței pentru om (probabil ca urmare a unei mutații care induce modificarea structurii hemaglutininei).

Mutantul poate fi folosit (i) direct ca vaccin numai dacă hemaglutinina corespunde antigenic virusului din natură sau, mai curînd, (ii) în producerea unui recombinant cu un virus care aduce noile antigene de suprafață (de ex.: tulpina ALICE).

(iii) *Adaptarea „la rece”*. Mutanții „reci” rezultă din adaptarea treptată, prin treceri succesive timp de 5—8 luni, pe culturi celulare primare de rinichi de embrion de găină la temperatura de 25°C; posedă markeri relativ ușor de evidențiat și sînt lipsiți de virulență dar imunogeni.

Caracterele pot fi transferate prin recombinare noilor variante antigenice de virus gripal, obținîndu-se „sămînța” pentru vaccin în decurs de numai 5—7 săptămîni.

(iv) *Mutația „ts”*. Mutanți „*ts*” sînt mutanți termosensibili rezultați din „copiere greșită” * (missense) și această „leziune” *ts* se asociază cu reducerea semnificativă a virulenței pentru gazda naturală sau experimentală.

Mutația ts a fost obținută cu toate grupele majore de virusuri. Poate fi indusă în aproape toți cistronii ceea ce cauzează variate defecte genetice responsabile, între altele, de atenuarea virulenței. Fiind relativ stabilă genetic, mutația *ts* permite obținerea de tulpini-candidat vaccinante. Mutanții fiind dependenți de temperatură scăzută, vor multiplica în căile aeriene superioare (32°—34°C), dar nu și în etajele inferioare unde temperatura de 37°C este restrictivă.

Candidați la vaccinuri vii-atenuate sînt mutanți *ts* de *virus gripal* și virus *respirator sincițial* induși prin cultivarea virusului în prezența unui mutagen chimic (ex.: 5-fluorouracil).

Mutația *ts* care induce atenuarea virulenței poate fi transferată virusului gripal purtător de hemaglutinină selectată (cu condiția ca leziunea *ts* să nu interfereze genele care codifică glicoproteinele de suprafață).

---

* *Missense mutation*: mutația unei gene în care codonul care codifică un aminoacid particular este înlocuit cu unul specificînd alt aminoacid. Ca urmare, într-o anumită poziție din lanțul polipeptidic survine o substituție de aminoacid ceea ce alterează într-o măsură activitatea biologică (expresia fenotipică) a proteinei originale.

b) **Riscuri ipotetice** legate de vaccinurile vii-atenuate constau în:

(i) posibilitatea unei eventuale reversii la virulență crescută față de om (nedemonstrată practic pentru vaccinurile autorizate);

(ii) posibilitatea prezenței în vaccin de agenți virali străini care infectează latent substratul celular (de ex.: oncornavirusuri aviare, SV40 etc.); riscul poate fi evitat prin utilizarea ca substrat a linii de celule diploide umane (ex.: WI-38 *, MRC-5 etc.);

(iii) posibilitatea efectelor tardive imunopatologice de tipul acelora cauzate prin dezechilibre imunologice după administrarea vaccinurilor inactivate rujeolic sau respirator sincițial și urmată de infecția cu virus sălbatic sau vaccin viu;

(iv) posibilitatea producerii unei infecții persistente endosimbiotice cu virusul-vaccin (demonstrată pentru tulpina Schwartz de vaccin viu rujeolic în culturi de celule) și integrarea genomului viral în genomul celular gazdă sub formă de copie DNA virală (nedemonstrată) și relația acestor procese cu panencefalita sclerozantă subacută. De asemenea, mutanți *ts* de virus rujeolic și de reovirus determină la hamster sugar infecție cronică a sistemului nervos central manifestată prin obstrucția canalului ependimar și hidrocefalie consecutivă. Hidrocefalia la hamster sugar, rezultat al stenozei canalului apeductal, se produce la intervale variate după inocularea intracerebrală cu virus gripal, paragripal tip 2, al parotiditei epidemice dar nu și cu virus rujeolic.

Recent s-a demonstrat că un *mutant ts* de virus rujeolic indus cu proflavină a determinat hidrocefalie, în medie la 76% (50%—100%) din animalele inoculate, eventual și cu deformări ale cutiei craniene, la interval de 14—33 zile după inoculare. Animale sacrificate la 8 luni după inoculare prezentau leziuni similare deși erau asimptomatice. Virusul rujeolic parental din care a fost derivat mutantul *ts* nu determină aceste modificări patologice, de unde concluzia că mutanții pot fi agenți cauzali ai unor boli care nu sînt asociate cu virusul parental, sălbatic;

(v) în sfîrșit, nu trebuie omisă posibilitatea transformării oncogene tardive legată de însuși infecția persistentă cu virusul defectiv vaccinant sau agenți oncogeni adventițiali prezenți în substratul celular folosit pentru prepararea vaccinului.

Normele de control pentru vaccinurile vii efectuate în vederea autorizării folosirii la om sînt reglementate și elimină riscurile imediate și tardive.

Pînă în prezent, după vaccinarea a milioane de persoane cu vaccinuri vii-atenuate virale, urmărite pînă la peste 25 ani de la vaccinare, nu au fost găsite probe despre eventuale efecte nocive de felul celor obținute experimental.

3. VACCINURI CU SUBUNITĂȚI VIRALE

Eforturile în direcția preparării de vaccinuri compuse numai din subunitățile virale structurale se justifică prin aceea că, deși nu sînt mai eficiente, acest nou tip de vaccin reduce sau elimină (i) reacțiile toxice și (ii) consecințele dăunătoare tardive legate de administrarea vaccinurilor inactivate sau vii-atenuate.

---

* Tulpina WI—38 derivată din fibroblaști din pulmon de embrion uman a fost retrasă din uz deoarece era contaminată.

— Efectele nocive ale vaccinurilor virale pot fi grupate în: (i) reacţii adverse ale organismelor *normale* faţă de natura antigenului viral sau calea de administrare (ca de exemplu rujeola atipică şi bronşiolita cu virus respirator sinciţial); (ii) reacţii nocive ale organismelor *imunologic deficiente* (de ex. vaccina gangrenoasă); (iii) reacţii adverse de etiologie obscură, probabil prin mecanism *imunopatologic* (de ex. artrita rubeolică, PESS rujeolică şi encefalita postvaccinală).

Au fost produse, experimentate şi utilizate:

(i) *Vaccinuri gripale cu hemaglutinină* (obţinută după ruperea virionilor cu eter sau dezoxicholat de sodiu) induc anticorpi neutralizanţi specifici de variantă antigenică şi sînt foarte bine tolerate şi de sugar şi de copilul mic. Un vaccin cu *neuraminidază* experimentat recent pe voluntari a indus „imunitate permisivă" la infecţie.

(ii) *Vaccinuri adenovirale* au fost preparate cu *hexone* (care induc anticorpi neutralizanţi specifici de tip ca şi anticorpi care reacţionează încrucişat cu celelalte tipuri de adenovirus) şi *fibre pentonice* (care induc anticorpi neutralizanţi specifici de tip, ca şi anticorpi inhibitori ai hemaglutinării care reacţionează încrucişat cu alţi membri din subgrupă).

Imunizarea cu 100—200 μg de hexone sau fibre purificate, ori cu un amestec al celor două proteine, determină la peste 75% din voluntari apariţia de anticorpi neutralizanţi şi rezistenţă la infecţia de probă pe cale nazofaringeană.

Vaccinuri din subunităţi virale au dat rezultate în primul rînd în profilaxia infecţiilor în care protecţia nu necesită intervenţia ca factor major a imunităţii mediată celular.

Antigenele imunogene prezente în subunităţile virale folosite sînt timusdependente.

Vaccinuri cu subunităţi virale sînt de un interes deosebit în profilaxia hepatitei tip B (AgHBs), rubeolei, rujeolei, infecţiilor cu paramyxovirus, virus respirator sinciţial, virusuri herpetice (herpes simplex, citomegalic, varicela-zoster).

Costul vaccinurilor cu subunităţi este ridicat, nu se pot obţine în cantităţi mari, practic trebuie asociate cu adjuvanţi (imunostimulatori) şi nu există încă suficientă experienţă cu privire la posibile efecte dăunătoare prin dezechilibrarea proceselor imunogenezei.

Vaccinurile virale vii-atenuate au dat rezultate strălucite şi rămîn baza acţiunilor profilactice.

4. ADJUVANŢI IMUNOLOGICI

Adjuvanţi sau imunostimulatori sînt substanţe care, încorporate într-un antigen sau inoculate în acelaşi timp cu antigenul, potenţează prin mecanisme nespecifice, răspunsurile imune induse.

Există cîteva sute de substanţe cu asemenea proprietăţi demonstrate experimental, naturale (ex.: produse bacteriene cum sînt BCG, Corynebacterium parvum, LPS; fungice; vegetale) sau sintetice (ex.: poliribonucleotide, levamisol, tiloron, pyran, muramyldipeptid etc.).

Unele stimulează anticorpogeneza (ex. : endotoxina bacililor gram negativi sau LPS), altele imunitatea mediată celular (ex. : adjuvantul Freund complet, BCG, lentinan).

În sfîrșit, unii imunopotențiatori acționează pe arcul aferent (stimulînd nespecific activitatea macrofagului sau limfocitului T), alții pe arcul eferent activînd limfocitele B.

În stadiul actual însă, modul de acțiune nu este pe deplin controlat, o aceeași substanță determinînd fie imunostimulare fie imunosupresie în funcție de calea de administrare, doză, ritm, reactivitatea subiectului etc.

Aplicare practică la om în stimularea răspunsului imun la vaccinuri virale inactivate sau cu subunități virale au găsit numai adjuvantul Freund *incomplet*, mai ales sub forma de preparate de tip *Adjuvant 65* constînd într-o emulsie apă-în-ulei (de arachide) în care faza apoasă conține imunogenul, emulsificată cu manid monooleat (Arlacel A) și stabilizată cu monostearat de aluminium.

Acțiunea de imunopotențare ar ține de (i) protejarea imunogenului față de degradarea enzimatică și ca urmare a persistenței sale timp mai îndelungat la locul inoculării ; (ii) captarea mai activă de către macrofage și dispersia în alte sedii active imunologic ; (iii) atragerea și reținerea unui număr sporit de mononucleare la sediul inoculării de unde amplificarea numărului de celule implicate în răspunsul imun, și altele.

Avantajele utilizării adjuvanților de tip emulsii apă-în-ulei (este suficientă o singură inoculare pentru obținerea unui răspuns de tip secundar și economia de vaccin) depășesc sensibil dezavantajele (o oarecare reacție locală, tolerabilă) și utilizarea lor pe scară largă nu a dus la semnalarea de efecte tardive imputabile vaccinului.

C. VACCINURI VIRALE UTILIZATE

a) **Principalele vaccinuri**, inactivate sau vii-atenuate, folosite în prezent în țări din *zona temperată* (tabel 125) se grupează în (i) vaccinuri recomandate pentru imunizarea sistematică și permanentă a întregii populații receptive ca, de exemplu, vaccinurile variolic, poliomielitic, rujeolic, urlian și rubeolic și (ii) vaccinuri pentru imunizare în condiții speciale (expunere accidentală, epidemii, călătorie în arii endemice etc.) așa cum sînt vaccinurile rabic, gripal, adenoviral, cu arbovirusuri (febră galbenă, encefalita rusă de primăvară—vară etc.).

b) **Administrarea simultană**, *în sedii diferite*, a mai multe vaccinuri virale (ex. : vaccinal—febră galbenă—rujeolă ; poliomielitic și DTP) ca și *combinații de vaccinuri* cu virus viu atenuat (rujeolă—oreion—rubeolă sau rujeolă—oreion etc.) s-au demonstrat eficace pentru fiecare din componentele aflate în vaccin și pot constitui o soluție organizatorică impusă de condiții locale particulare.

Tabelul 125

Vaccinuri virale principale utilizate în profilaxia infecţiilor virale la om, în ţări cu climă temperată

Boala	Sursa de vaccin	Starea virusului	Calea de administrare
	A. *Pentru imunizarea sistematică a populaţiei susceptibile*		
Variola[1]	— Limfă vaccinală obţinută pe viţică sau oaie (glicerinată, liofilizată);	viu	intradermic, prin multipunctură cu ac special bifurcat
	— membrane chorioalantoidiene sau culturi de celule (liofilizat)	viu	
Poliomielita	— Cultura de celule renale de maimuţă (formolat, eventual şi UV)	inactiv (SALK)	intramuscular
	— Culturi de celule (linii diploide umane, rinichi de maimuţă)	viu-atenuat (SABIN)	oral
Rujeolă[2]	— Cultură de celule (embrion de găină)	viu-atenuat[3] (ex. tulpina Schwarz, L-16)	subcutanat
Oreion[2]	— Cultură de celule (embrion de găină)	viu-atenuat[4]	subcutanat
Rubeolă[2]	— Cultură de celule (embrion de raţă, iepure sau rinichi de cîine)	viu-atenuat[4]	subcutanat
	B. *Pentru imunizare numai în anumite condiţii de risc*		
Rabie	— Cultură de celule: embrion de raţă; rinichi de embrion de hamster, BHK-21 (formolat; betapropiolactonă; UV)	inactiv	subcutanat
Febră galbenă	— Culturi de celule sau embrion de găină	viu-atenuat (tulpina 17D)	subcutanat sau intradermic
Gripă	— Embrion de găină (l. all.) (formolat sau UV), eventual subunităţi virale	inactiv	subcutanat sau endonazal în aerosoli
	— Mutanţi „reci"	viu-atenuat	endonazal
Adenoviroză[5]	— Culturi de celule; rinichi de maimuţă (formolat) eventual, subunităţi virale	inactiv	intramuscular
	— Celule diploide umane	viu-atenuat	oral, în capsule enterale
Encefalita de primăvară-vară	— Creier de şoarece (formolat)	inactiv	subcutanat

[1] Variola fiind eradicată practic pe toate continentele, multe ţări au sistat vaccinarea de rutină, inconvenientele vaccinării depăşind cu mult riscul de îmbolnăvire. Dacă se impune vaccinarea gravidei este necesară inocularea simultană de imunoglobulină anti-vaccinală pentru protecţia fătului.

[2] Se pot constitui în vaccin combinat.

[3] Vaccinul rujeolic inactivat a fost părăsit datorită efectelor tardive imunopatologice (rujeolă atipică severă) produse la vaccinaţi infectaţi cu virus „sălbatec".

[4] Vaccinul rubeolic nu se administrează la gravide şi timp de cel puţin trei luni după vaccinare sarcina este riguros contraindicată datorită riscului de malformaţii congenitale (perioada imediat postpartum este cea mai sigură pentru vaccinare).

[5] Utilizabil la grupe limitate de populaţie, în condiţii de risc crescut de infecţie acută respiratorie (ex.: recruţi, studenţi, elevi).

D. SEROPROFILAXIE

În unele situații speciale se impune asigurarea rapidă a protecției unei persoane aflată în iminență de îmbolnăvire, în incubație (de ex. copii susceptibili contacți direcți ai unui bolnav de poliomielită, hepatită tip A, persoane contaminate accidental cu virus hepatitic tip B, persoane mușcate de cîine rabic etc.). Protecția rapidă se poate realiza cu ajutorul anticorpilor specifici preformați, de origine umană (de la vaccinați, persoane infectate natural în trecut și posedînd titruri ridicate de anticorpi) sau animală (ser de animal hiperimunizat).

Întrucît inocularea de ser total prezintă serioase inconveniente și activitatea anticorp se află în fracțiunea gamaglobulinică a plasmei, astăzi se folosește (i) *gamaglobulina umană „standard"* (preparată din plasmă de la donatori și conținînd anticorpi IgG față de virusuri care infectează marea majoritate a populației ca de exemplu rujeolă, hepatită tip A) sau (ii) *imunoglobuline umane specifice*, preparate din plasma de la donatori selectați, bogată în anticorpi IgG specifici ca urmare a unei vaccinări recente (ex. : imunoglobulina anti-vaccinia, anti-rabică) sau după infecții relativ recente (ex. : imunoglubulina anti-HBs).

Separarea gamaglobulinei umane prin metoda fracționării cu alcool la rece (metoda Cohn) și conservarea prin liofilizare conferă cel mai înalt grad de siguranță că preparatul nu conține AgHBs și prin aceasta riscul transmiterii hepatitei B este practic eliminat.

Administrarea de ser imun (seroprofilaxia) este o măsură cu caracter de asistență medicală „de urgență", comportă riscuri tardive, nu poate fi aplicată unei persoane decît o singură dată și exprimă, în ultimă analiză, eșecul profilaxiei.

Seroprofilaxia „de rutină" (de exemplu în școli, pentru profilaxia hepatitei) nu este justificată științific (poate induce infecții persistente), comportă riscuri (ex. : transmiterea hepatitei B de la purtători), este irealizabilă practic (din lipsa cantităților necesitate de gamaglobulină) este costisitoare și nu se poate substitui măsurilor de igienă și salubrizare țintind la întreruperea transmiterii fecal-orale.

BIBLIOGRAFIE

1. CRAIGHEAD J.E. : Report of a Workshop : Disease Accentuation after Immunization with Inactivated Microbial Vaccines. *J. Infect. Dis.*, *131*, 749—754, 1975.
2. DUCA M. : A Review of Measles Vaccination. *Les Carnets de l'enfance* (*UNICEF*), *31*, 89—107, 1975.
3. DUCA M. : Cunoașterea mecanismului variației antigenice naturale a virusului, problema-cheie a profilaxiei gripei. *Rev. Med. Chir., Soc. Med. Nat.*, Iași, *80*, 1, 159—160, 1976.
4. HENNESSY A.V., DAVENPORT F.M. : Studies on Vaccination of Infants Against Influenza with Influenza Hemagglutinin. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, *146*, 200—204, 1974.
5. HICKMAN J.W., BARNESS L.A. : Immunization Program for Adults. *J.A.M.A.*, *237*, 2, 129—130, 1977.

6. KILBOURNE E.D.: Comparative Efficacy of Neuraminidase-Specific and Conventional Influenza Virus Vaccines in Induction of Antibody to Neuraminidase in Humans. *J. Infect. Dis.*, *134*, 4, 384—394, 1976.
7. MEIKLEJOHN G.: Control of Smallpox and Influenza. *J. Infect. Dis.*, *127*, 2, 215—219, 1973.
8. MELNICK J.L., HOLLINGER F.B., DREESMAN G.R.: Viral hepatitis Research Leading towards Control by Vaccination. *Arch. Roum. Path. Exp. Microbiol.*, 35, 1—2, 5—65; 1976.
9. MURPHY B.R., CHALUB E.G., MUSINOFF S.R., KASEL J., CHANOCK R.M.: Temperature — sensitive Mutants of Influenza Virus. *J. Infect. Dis.*, *128*, 4, 479—494, 1973.
10. SABIN A.B.: Vaccination at the Portal of Entry of Infectious Agents pp. 3—9, in: *Developments of Biological Standardization*, vol. *33*, Karger, Basel, 1976.
11. SCHOENBAUM S.C., McNEIL B.J., KAVET J.: The Swine — Influenza Decision. *N. Engl. J. Med.*, *295*, 14, 759, 1976.
12. WIKTOR T.J., SOKOL F., KUWERT E., KOPROWSKI H. Immunogenicity of Concentrated and Purified Rabies Vaccine of Tissue Culture Origin. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, *131*, 799, 1969.
13. * * * International Symposium on Vaccination of Man and Animals by the Nonparenteral Route, in *Developments in Biological Standardization*, vol. *33*, Karger, Basel, 1976.
14. * * * Simposion on Influenza Immunization, Geneva, June, 1977. in: *Developments in Biological Standardization*, vol. *39*, Karger, Basel, 1977.

L. DIAGNOSTICUL DE LABORATOR AL VIROZELOR

„**Laboratoarele (...) sînt temple ale viitorului". (L. Pasteur, 1871)**

Laboratorul virusologic de specialitate, dotat tehnic și încadrat cu personal calificat, este indispensabil funcționării eficiente a ocrotirii sănătății în sistemul staționar, asistență ambulatorie sau centre sanitaro-antiepidemice în scopul rezolvării problemelor unuia din cele mai importante domenii de patologie și cu repercusiuni economice.

— Argumentele sînt următoarele: (i) numărul îmbolnăvirilor prin virusuri întrece cu mult numărul bolnavilor de alte cauze și, în ultimii ani, sînt descoperite noi grupe de virusuri patogene cauzînd infecții severe în special la nou-născut, sugar și copil; (ii) expresia clinică în majoritatea cazurilor nu este suficientă pentru a se putea stabili etiologia îmbolnăvirilor observate; (iii) diagnosticul corect și rapid al primelor îmbolnăviri permite inițierea măsurilor de protecție a colectivității cît și a celor deja infectați; (iv) utilizarea eficientă a chimioterapiei antivirale, care este în continuă dezvoltare, necesită stabilirea precisă a virusului în cauză și, uneori, chiar și a sensibilității la drog a tulpinii prezentă la bolnav; (v) diagnosticul de infecție virală permite evitarea administrării inutile și abuzului de antibiotice deci și a consecințelor grave ale acestora; (vi) stabilirea, în ultimii ani, a rolului virusurilor în numeroase boli cronice, persistente și evolutive dintre cele mai variate, inclusiv în neoplazii și în malformațiile și defectele congenitale cele mai variate, fizice și intelectuale, obligă la utilizarea laboratorului de specialitate pentru diagnostic, orientare terapeutică și profilactică; (vii) profilaxia specifică și nespecifică nu pot funcționa eficient decît pe baza cunoașterii structurii și dinamicii morbidității și mortalității specifice ceea ce necesită examene de laborator de specialitate; (viii) există în prezent noi metode și tehnici de laborator de mare specificitate și sensibilitate, accesibile și de mare randament; (ix) beneficiile depășesc considerabil costurile organizării și funcționării laboratorului de diagnostic al virozelor.

În raport cu (i) *obiectivele* principale, (ii) *domeniul* particular de preocupări și (iii) *metodologia* folosită, există două tipuri de laboratoare cu caracter aplicativ : a) *Laboratorul clinic * de virusologie* avînd ca obiectiv principal *diagnosticul rapid și precoce de infecție virală* și de agent etiologic la bolnavul examinat la domiciliu, prezentat la ambulator sau internat în spital; tot laboratorului clinic îi revin definirea stadiului patogenetic al bolii și a particularităților reactive ale bolnavului, inclusiv reactivitatea imunologică umorală și celulară, urmărirea dinamicii procesului pato- și imunogenetic în vederea orientării a eventuale intervenții corective necesare cu scopul obținerii vindecării complete și instalării stării de imunitate. b) *Laboratorul de virusologie din centrul sanitaro-antiepidemic* căruia îi revine diagnosticul epidemiei, supravegherea circulației virusurilor (infecții inaparente și ușoare) și studiul dinamic al stării de imunitate antivirală a populației, stabilirea grupelor de risc, a priorităților și evaluarea eficienței măsurilor de control și profilaxie specifică și nespecifică programate în colectivitate.

Între cele două tipuri de laboratoare există interrelații funcționale de potențare reciprocă a eficienței iar metodologia și tehnicile se bazează pe aceleași noțiuni fundamentale privind infecția virală.

A. BAZELE METODOLOGICE

În abordarea aspectelor teoretice și practice ale diagnosticului infecției virale trebuie avute în vedere trei categorii de probleme :

a) **Aspecte clinico-epidemiologice.**

(i) O aceeași manifestare clinică poate fi produsă de o varietate de virusuri, ca și de bacterii, mycoplasme, rickettsii, protozoare etc. (ex. : „boala acută respiratorie", „gastroenterită", „meningită" etc.).

(ii) Un același virus (agent infecțios) poate produce o varietate de aspecte clinice : sindroame diferite acute, cronice sau deficiențe în dezvoltare.

(iii) Agentul etiologic viral al unui sindrom clinic acut variază în general în raport cu vîrsta grupului infectat, sezonul, anul, aria geografică, tipul de colectivitate etc.

(iv) Identificarea agentului cauzal numai pe baze clinice este de regulă imposibilă.

(v) Cauza infecțioasă a unui procent însemnat de îmbolnăviri acute și cronice este ignorată sau eronat indicată.

b) **Aspecte metodologice.**

(i) *Evidențierea virusului* matur, încapsidat, infectant sau a antigenelor virale specifice în secreții, excreții sau țesuturi la bolnav are în general șanse de reușită dacă (1) este practicată în primele zile de la debutul îmbolnăvirii, (2) se recoltează produsul patologic revelator (care conține virus) în raport de manifestarea bolii și (3) se asigură conservarea viabilității agentului pînă în momentul inoculării la gazde de laborator.

---

* *Clinicianul* este format printr-un proces îndelungat pentru a scoate în evidență semnele și simptomele bolii pe baza cărora, prin raționamente specifice, stabilește diagnosticul, elaborează, aplică și modulează conduita terapeutică și de recuperare. *Patologul*, pe baza măsurătorilor de laborator executate, precizează etiologia și reconstituie secvența evenimentelor patogenetice la nivel tisular, celular și molecular la bolnavul observat. Aceste două compartimente se condiționează reciproc. Dezvoltările teoretice și tehnologice din ultimul timp rareori permit ca ambele să fie stăpînite eficient de o aceeași persoană.

(ii) *Prezenţa virusului* în produse recoltate la un bolnav, cu excepţia produselor natural sterile, nu înseamnă că este neapărat şi cauză a manifestărilor clinice observate. Indicaţii privind implicarea etiologică a agentului izolat pot furniza concentraţia virusului, prezenţa şi în alte arii anatomice, relaţiile cu celule, inducerea formării de anticorpi specifici.

(iii) *Evidenţierea unui răspuns activ în anticorpi* specifici (apariţia şi/sau creşterea de cel puţin 4 ori a anticorpilor specifici în ser, eventual în LCR), asociată temporal cu desfăşurarea semnelor de boală şi eventual prezenţa virusului, constituie un criteriu solid însă tardiv al diagnosticului etiologic. Evidenţierea *dinamicii* anticorpilor serici presupune testarea a cel puţin două probe de ser recoltate la intervale adecvate în raport cu debutul. Întîi apar anticorpi IgM (sensibili la 2 mercaptoetanol, 2-ME) urmat de IgG (rezistenţi la 2-ME) care persistă apoi timp îndelungat, după dispariţia IgM.

(iv) *Prezenţa anticorpilor specifici IgM* în titru ridicat semnifică infecţie recentă ; asociat cu evenimente clinice recente, are semnificaţie diagnostică.

(v) *Prezenţa anticorpilor specifici IgG* în titru constant semnifică infecţie în antecedente îndepărtate şi probează existenţa stării de imunitate.

(vi) Avînd în vedere că unele familii importante de virusuri sînt reprezentate de multiple genuri şi numeroase tipuri antigenice (ex. : enterovirus, adenovirus, arbovirus, myxovirus etc.) şi a căror identificare este laborioasă, pentru diagnosticul de implicare etiologică este suficient a se demonstra creşterea titrului anticorpilor serici *faţă de agentul izolat de la bolnav.*

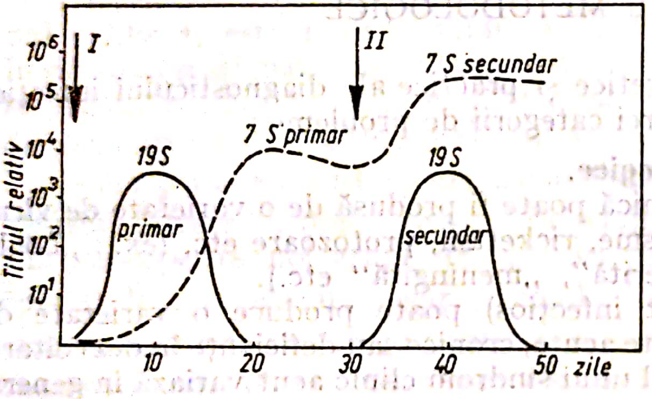


Fig. 282 : Răspunsul primar şi răspunsul secundar în anticorpi serici IgM (19S) şi IgG (7S).

Anticorpii IgM pot fi diferenţiaţi de IgG prin variate metode (ex : IgM sînt sensibili la 2-mercaptoetanol).

c) **Aspecte tehnologice.** Organizarea şi funcţionarea eficientă a diagnosticului virozelor au căpătat o *orientare nouă* şi au devenit *accesibile clinicii* graţie progreselor recente ale tehnicilor de culturi celulare şi de executare a testelor serologice antigen-anticorp pentru identificarea izolatelor sau pentru serodiagnostic.

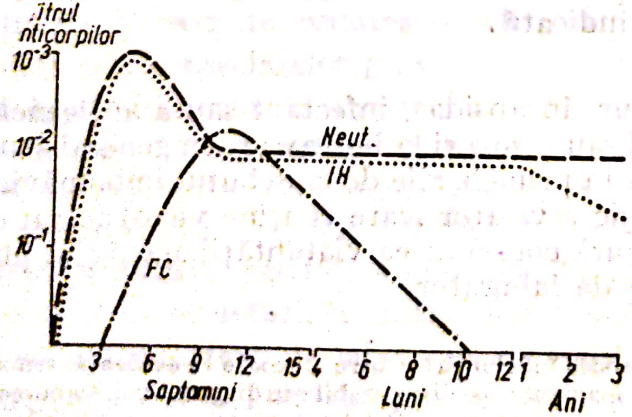


Fig. 283 : Dinamica anticorpilor în infecţia cu arbovirus :

anticorpii fixatori apar ceva mai tîrziu decît cei neutralizanţi şi dispar relativ repede permiţînd diagnosticul de infecţie recentă.

Dintre acestea trebuie reţinute pentru impactul lor deosebit în diagnosticul de rutină şi studiul virusurilor, următoarele :

(i) *Utilizarea anticorpilor marcaţi* cu fluorocrom, radionuclide, ferritină sau en-

Fig. 284: Microscopia electronică în diagnosticul rapid folosind preparate din baza leziunilor cutanate colorate negativ cu fosfotungstat (× 120 000).

a: Virus vaccinia;
b: Virus varicela-zoster. (*Gardner, P.S.*)

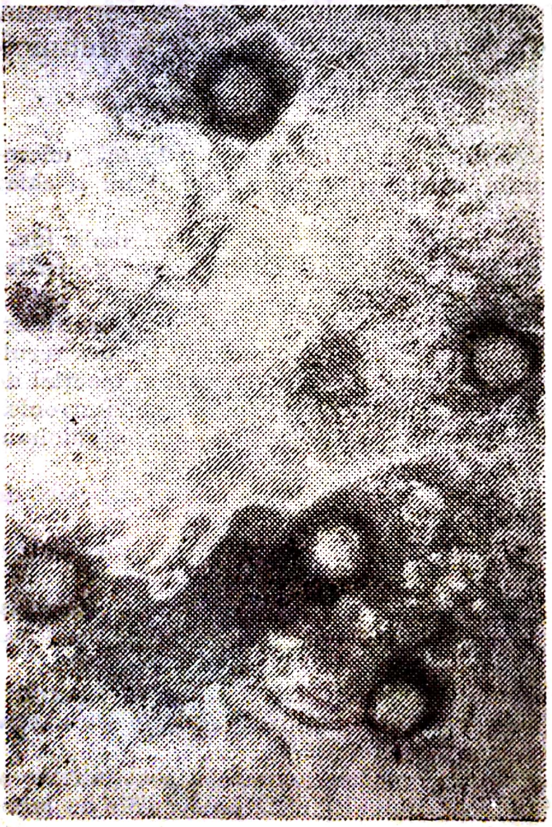


Fig. 285: Microscopia electronică în diagnosticul rapid. Herpesvirus în biopsia din creier de bolnav (contrastare cu fosfotungstat; × 120 000). (*Gardner, P.S.*)

zime în laboratorul de diagnostic a permis (1) elaborarea diagnosticului *precoce și rapid* de care să beneficieze în primul rînd bolnavul de la care au fost recoltate produsele, (2) efectuarea de examene imunocitochimice în arii histologice și sedii citologice inaccesibile metodelor convenționale, (3) urmărirea etapelor patogenetice și imunogenetice la nivel tisular, celular și molecular. „Lectura" reacțiilor cu anticorpi marcați se bazează pe înregistrări autoradiografice sau pe măsurarea de semnale (impulsuri) înregistrate de aparatură foarte sensibilă (contor Coulter, fluorometru etc.) rezultatele fiind exprimate în micrograme (μg) și nanograme (ng) pe unitate de volum (ml).

(ii) *Utilizarea imunoelectronomicroscopiei* a permis diagnosticul rapid al unor viroze relativ inaccesibile metodelor convenționale ca de exemplu gastroenterita acută cu parvovirus sau cu reovirus (rotavirus), hepatita virală tip A și tip B, infecții acute respiratorii virale etc.

(iii) *Miniaturizarea* * constînd din (1) microtehnici pentru izolarea și identificarea virusurilor pe culturi celulare și (2) microtehnici pentru reacții serologice, ambele executate pe plăci din material plastic cu godeuri (reutilizabile sau de folosire unică) și, eventual, *mecanizarea*[1] unor timpi ai reacțiilor și chiar *automatizarea* [2] testelor, conferă un randament mult sporit, în condiții de *sensibilitate* [3] și *specificitate* [4] mult mai bine controlate. Aceste metode dau posibilitatea examinării a probe numeroase, prin teste multiple pentru o aceeași probă, de unde posibilitatea de a se executa studii verticale și longitudinale pe eșantioane statistic reprezentative chiar și la vîrste fragede etc.

Pe de altă parte, miniaturizarea înseamnă în același timp economie de reagenți, de materiale, de timp și de mînă de lucru în condiții de sporire a *preciziei* [5] și *acurateții* [6] metodelor de laborator ceea ce mărește gradul de confiență exprimat în termenii *controlului de calitate* [7].

Adoptarea unor anumite scheme și metode de lucru ține seama atît de prioritățile clinico-epidemiologice cît și de eficiența practică a tehnologiei noi, avînd la bază studii și evaluări cost-beneficii.

B. LABORATORUL CLINIC DE VIRUSOLOGIE

Este dominat de necesitatea stabilirii unui *diagnostic rapid* **, în decurs de cîteva ore (2—3 ore) de la primirea produsului patologic ceea ce în bună măsură a devenit astăzi posibil, în condiții adecvate de dotare și tehnicizare.

---

* Semi-microtehnicile folosesc în general volume de reagenți între 0,1—0,25 ml; microtehnicile lucrează cu volume de 0,025 ml iar minimicrotehnicile cu volume de 0,01 ml și chiar mai mici.

[1] *Mecanizarea* constă în folosirea de dispozitive care înlocuiesc execuția manuală (ex.: distribuitoare mecanice pentru volume constante de reactanți, de făcut diluții în serie, de spălat vesela etc.)

[2] *Automatizarea* constă în agregate de aparate funcționînd coordonat sub control electronic, după un program complex, pentru a executa întreg procesul tehnologic inclusiv lectura rezultatului și eventual înregistrarea. Există aparatură automatizată pentru executarea reacției de fixare a complementului sau a reacției de inhibare a hemaglutinării, aparatură electronică pentru efectuarea radioimunodozării, sistemul automatizat „gammaflow" pentru micro-radioimunodozare etc.

[3] *Sensibilitate*: capacitatea unei tehnici de a semnala prezența de concentrații *mici* de substanță măsurată într-un substrat.

[4] *Specificitate*: capacitatea unei tehnici de a da un răspuns negativ atunci cînd starea *reală* a produsului testat este negativă.

[5] *Precizia*: este magnitudinea rezultatelor exprimate cantitativ în teste *repetate* pe același specimen, fără referire la valoarea reală a substanței măsurată; cu cît diferențele sînt mai mici cu atît tehnica este mai precisă.

[6] *Acuratețea*: este mărimea discrepanțelor între rezultatele testelor cantitative executate și cantitatea *reală* de substanță în specimen; cu cît diferențele sînt mai mici cu atît acuratețea tehnicii este mai mare. (O tehnică precisă poate avea acuratețe redusă.)

[7] *Controlul de calitate* poate asigura nivele maxime de precizie, acuratețe, sensibilitate și specificitate (termeni care adeseori sînt folosiți unul în locul celuilalt) dacă procedurile de laborator folosite sînt verificate prin utilizarea permanentă de *materiale și reactanți de referință* (*martori*).

** În 1975 a luat ființă „European Group for Rapid Laboratory Viral Diagnosis" (iar în 1977 un grup similar a fost constituit în America de Nord) avînd ca obiectiv elaborarea, promovarea și evaluarea de metode simple, eficiente și accesibile laboratorului clinic.

Metodele tradiţionale de izolare şi identificare a virusului şi serodiagnosticul bazat pe evidenţierea dinamicii anticorpilor nu pot furniza un răspuns rapid, în schimb constituie diagnosticul de certitudine care validează rezultatele metodelor rapide şi de aceea rămîn *metode de referinţă* pentru orice inovaţii tehnologice, deocamdată.

A doua particularitate a activităţii în laboratorul clinic, rezultînd din faptul că sindromul observat poate fi determinat de agenţi foarte diferiţi, este necesitatea executării unui veritabil *diagnostic diferenţial de laborator* : alături de dovezile pozitive pentru agentul etiologic implicat sînt necesare criterii (negative) pentru excluderea celorlalţi agenţi potenţial determinanţi ai îmbolnăvirii observată.

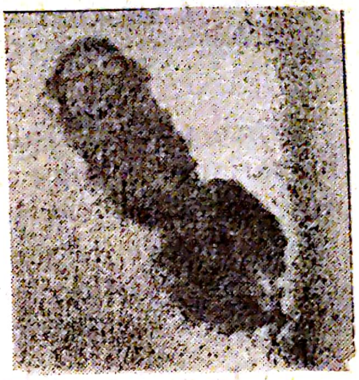


Fig. 286 : Microscopia electronică în diagnosticul rapid. Virus Orf în leziune cutanată la om (contrastare cu fosfotungstat ; × 150 000 (*Gardner, P.S.*)

De aici necesitatea de a se lucra acelaşi produs patologic printr-o aceeaşi tehnică folosind *„baterii" de seruri imune* specifice sau *„baterii" de antigene* reprezentînd agenţii etiologici implicabili.

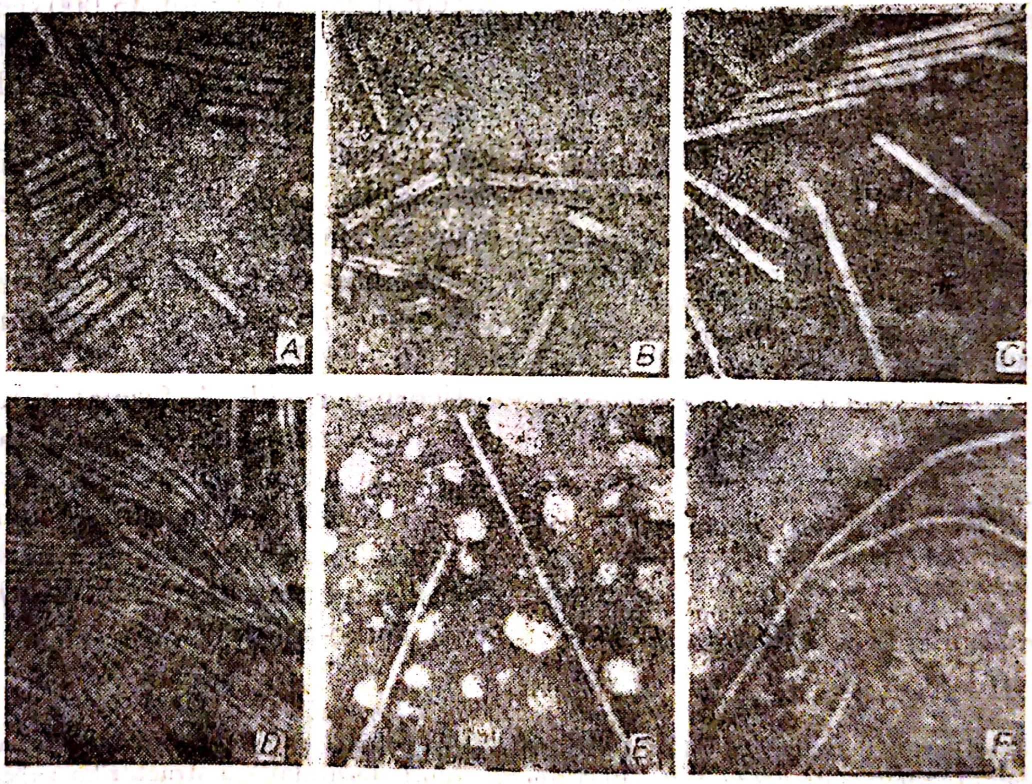


Fig. 287 : Electronomicrografie a preparate crude („colorate" negativ) din plante infectate.

A : Virusul mozaicului îndungat al orzului ;
B : Virusul mozaicului rugos al tutunului ;
C : Virusul mozaicului (clasic) tutunului ;
D : Virusul X al cartofului ;
E : Virusul M al cartofului ;
F : Virusul mozaicului scrijelat sever al tutunului.

1. METODA ANTICORPILOR MARCAŢI ÎN DIAGNOSTICUL RAPID AL VIROZELOR

Este practic realizată pentru majoritatea infecţiilor virale (tabel 126) în variante tehnice directe sau indirecte, aplicate pentru evidenţierea de antigene virale sau, invers, de anticorpi specifici (tabel 127).

În funcţie de trasorul folosit metodele pot fi de (i) *imunofluorescenţă*[*] (marcaj cu isothiocianat de fluoresceină), (ii) *imunoferritină*[**] (cu ferritină) sau (iii) *imunoperoxidază*[***] (cu enzimă).

a) **Imunoperoxidaza**. Cea mai valoroasă metodă este *imunoperoxidaza.* Reacţia histochimică între enzima peroxidazică şi substratul ei dă un produs insolubil vizibil la microscopul optic sau, după „colorare negativă" cu tetroxid de osmiu, la microscopul electronic.

— Microperoxidaza *(MP).* Este varianta optimală şi constă în cuplarea grupării active a enzimei (alcătuită din numai 8 aminoacizi cu gr. mol. sub 1.900 ;8 — *MP)* la fragmente *F(ab')2* obţinute prin clivare cu papaină din preparate purificate de IgG anticorp.

Practic, 2 molecule de 8—MP se cuplează cu o moleculă F(ab')2 rezultînd un conjugat cu gr. mol. 45.000 şi diametru de 3 nm care posedă două reactivităţi : specificitatea de combinare a Fab la antigen şi reactivitatea specifică faţă de substrat a peroxidazei, penetranţă în celulă şi putere de rezoluţie maxime[****].

Imunoperoxidaza se fixează pe antigenul viral specific, prezent în ţesut sau în celulă. Complexul antigen-anticorp-peroxidază, format intracelular sau extracelular, este apoi decelat pe baza activităţii peroxidază cu diferiţi reagenţi cum sînt benzidina, alfanaftol, amestec de alfa-naftol şi p-fenilendiamină (reactiv *Nadi*), diferiţi leuko-coloranţi.

Tabelul 126

Antigene virale şi anticorpi decelabile prin tehnici cu anticorpi marcaţi în produse patologice

DNA virusuri	RNA virusuri
Herpes simplex	Rujeolic
Varicela-Zoster	Rubeolic
Epstein-Barr	Parotidită epidemică
Citomegalovirus	Gripal
Virusul papilomului	Parainfluenţa
Adenovirusuri	Respirator sinciţial
Poxvirusuri	Enterovirusuri
	Arbovirusuri
	Rabic

Observaţie :
Posibilitatea aplicării fluorometriei şi automatizării permite utilizarea tehnicilor cu anticorpi fluorescenţi sau peroxidazici în diagnosticul de rutină precoce al infecţiilor virale umane pe scară largă.

---

[*] Este legată de exigenţe tehnice deosebite şi de o bună experienţă pentru diferenţierea fluorescenţei specifice de aceea nespecifică uneori proprie ţesutului sau structurilor subcelulare examinate.

[**] *Ferritina* are o gr.mol. de 750 000; după cuplare cu anticorpul specific conjugatul are gr. mol. 900 000 de unde penetranţă şi rezoluţie mai reduse. *Fosfataza alcalină* are 100 000 în schimb are dezavantajul lipsei de specificitate fiind prezentă şi în ţesuturile de examinat.

[***] *Peroxidaza de hrean* are gr. mol. 40 000 şi după conjugare cu anticorp ajunge la 200 000.

[****] *„Enzabody"* este denumirea comercială a unui asemenea conjugat enzimă-Fab.

Tabelul 127

Produse utilizabile pentru diagnosticul infecțiilor virale în laboratorul clinic prin tehnici cu anticorpi marcați *

Produse patologice	Metode
I. *Pentru evidențierea antigenelor virale ** *	
A. Celule din sedii afectate: piele, tract respirator, mucoasă orală sau uro-genitală, ochi, l.c.r., sînge, urină.	— directe[1] sau — indirecte[2]
B. Secțiuni sau amprente din fragmente bioptice sau necroptice din sedii afectate: piele, creier, tumoră, alte	
II. *Pentru evidențierea anticorpilor virali*	
(titrul total sau specific IgG, IgM sau IgA) A. Ser B. Lichid cefalorahidian C. Alte fluide organice	— indirect[3] — blocant[4] — inhibarea focarului[5]

** Imunofluorescent (ex.: conjugate cu isothiocianat de fluoresceină) sau imunoperoxidaza.

* Direct în produsul patologic recoltat de la bolnav sau în culturi de celule inoculate („testul întîrziat") pentru evidențierea antigenelor precoce.

[1] Procedeu într-un timp folosind un antiser marcat, specific pentru un anumit virus.

[2] Procedeu în doi timpi folosind anticorp specific față de virus preparat pe animal a cărui atașare la antigen este evidențiată cu un ser imun marcat antiglobulinic de specie.

[3] Procedeu în doi timpi: celule infectate cu virus cunoscut, fixate sau nefixate, sînt puse în contact cu proba de testat; anticorpii atașați la virus sînt puși în evidență cu ser imun marcat antiglobulină umană (totală sau specifică de clasă).

[4] Testul blocant constă în titrarea anticorpilor prezenți într-un fluid prin măsurarea efectului de inhibare a atașării la antigenul viral a serului imun specific marcat.

[5] Testul de inhibare a focarului este similar ca principiu testului de inhibare (neutralizare) a formării plajelor de liză virală, de astă dată fiind vorba de reducerea numărului de focare de celule infectate evidențiabile cu serul imun marcat.

Observație: Martorii adecvați sînt obligatori pentru a se confirma specificitatea tuturor testelor menționate.

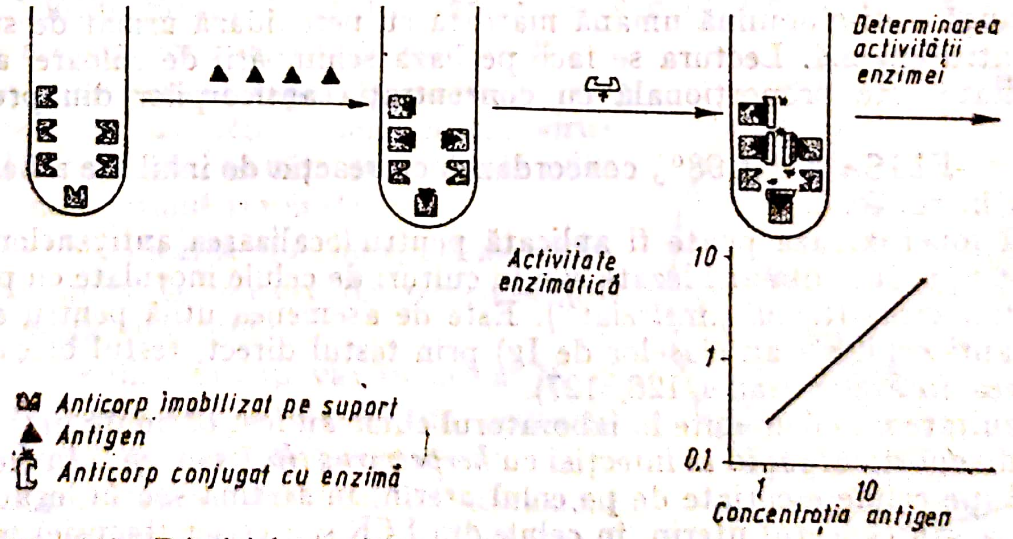

Determinarea activității enzimei
Activitate enzimatică
10
1
0.1
1
10
Concentrația antigen
Anticorp imobilizat pe suport
▲ Antigen
Anticorp conjugat cu enzimă

Fig. 288: Principiul reacției imunoperoxidază aplicată pentru măsurarea antigenului după tehnica *sandwich*.

Activitatea enzimatică rămasă în tub după spălarea finală este în raport *direct* cu concentrația de antigen în probă. (În *metoda competitivă*, antigenul din probă concurează cu *antigen cunoscut marcat cu enzimă* pentru ocuparea sediilor anticorp. În acest caz, activitatea enzimatică rămasă în tub este *invers* proporțională cu concentrația de antigen în probă).

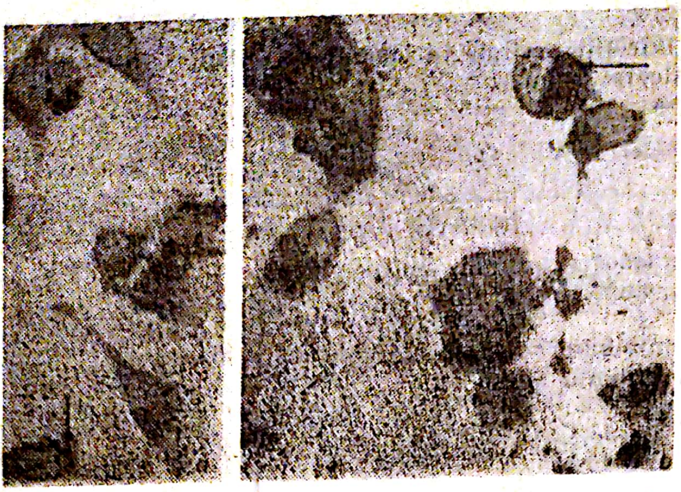


Fig. 289: Incluzii intracitoplasmice de virus respirator sincițial colorate cu imunoperoxidază în celule Hep2 infectate cu exsudat faringean de la bolnav (× 1 000). (*Kurstak, E.* și *Kurstak, C.*)

Sub acțiunea peroxidazei în prezența peroxidului de hidrogen benzidina este oxidată într-un produs albastru-brun vizibil la microscopul optic. Produsul fiind electronodens, poate fi localizat și la microscopul electronic.

— Tehnicile ELISA* (*enzyme-linked immunosorbent assay*), elaborate pe baza moleculelor anticorp active enzimatic, constau în principiu în utilizarea de anticorpi (sau antigene) imobilizați pe o suprafață solidă purtătoare (mărgele din plastic, suprafața internă a eprubetei). Acest imunosorbent reține antigenul din proba de testat (sau anticorpul). Complexul este pus în evidență cu anticorp marcat cu peroxidază. Tehnica este simplă, ușor de executat, economică (fig. 288).

ELISA este cel puțin la fel de sensibilă ca tehnicile de imunofluorescență, este mai sensibilă decît radioimunotestarea și are în plus avantajul că preparatul poate fi examinat atît la microscopul optic cît și electronic.

Degradarea substratului de către enzimă, măsurată fotometric, este proporțională cu concentrația antigenului (sau, respectiv, anticorpului) prezent în proba de testat.

În varianta *Micro-ELISA*, poate constitui o metodă extrem de simplă și utilă în serodiagnosticul de rutină : antigenul viral este adsorbit pe godeurile plăcii din polistiren (de folosire unică) care se păstrează la congelator ; în godeu se pune o singură diluție de ser și se incubează cîteva ore. Se spală. Se adaugă anti-globulină umană marcată cu peroxidază urmat de substratul pentru enzimă. Lectura se face pe baza schimbării de culoare a cărei intensitate este proporțională cu concentrația anticorpilor din proba de testat.

Micro-ELISA a dat 98% concordanță cu reacția de inhibare a hemaglutinării în rubeolă.

Imunoperoxidaza poate fi aplicată pentru localizarea antigenelor virale direct pe produse din arii lezate sau în culturi de celule inoculate cu produse conținînd virus (testul „întîrziat"). Este de asemenea utilă pentru evidențierea anticorpilor (sau claselor de Ig) prin testul direct, testul blocant sau inhibarea focarelor (tabel 126, 127).

Rezultate mai deosebite în laboratorul clinic au fost obținute în :

(i) diagnosticul rapid al infecției cu *herpesvirus tip 1* sau *tip 2* în herpesul genital (pe celule escoriate de pe colul uterin) în sarcină sau în legătură cu displazia sau cancerul uterin, în celule din LCR sau creier (biopsie) în encefalita herpetică ;

---

* ELISA se aplică în mod curent în endocrinologie, imunopatologie, hematologie, microbiologie etc.

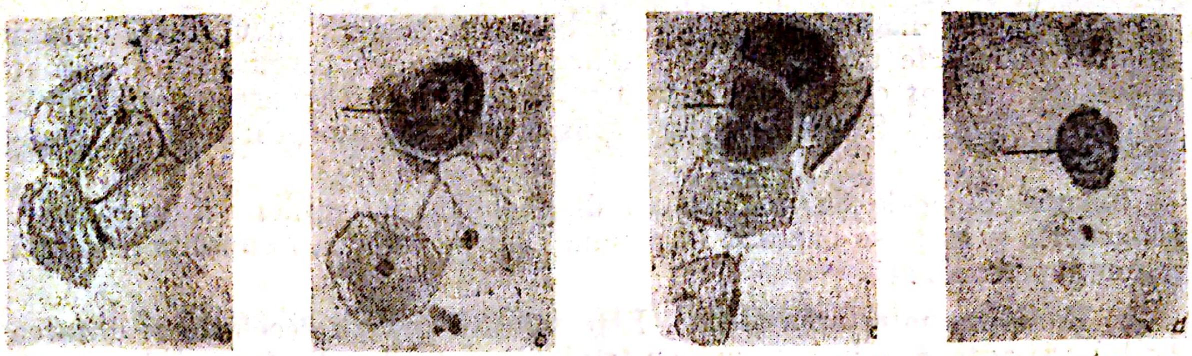


Fig. 290 : Herpesvirus tip 2 colorat cu imunoperoxidază în frotiu de celule raclate din leziune pe col uterin (săgețile în *b, c, d*). În ***a*** : martor normal. (*Morisset, R.* și colab.)

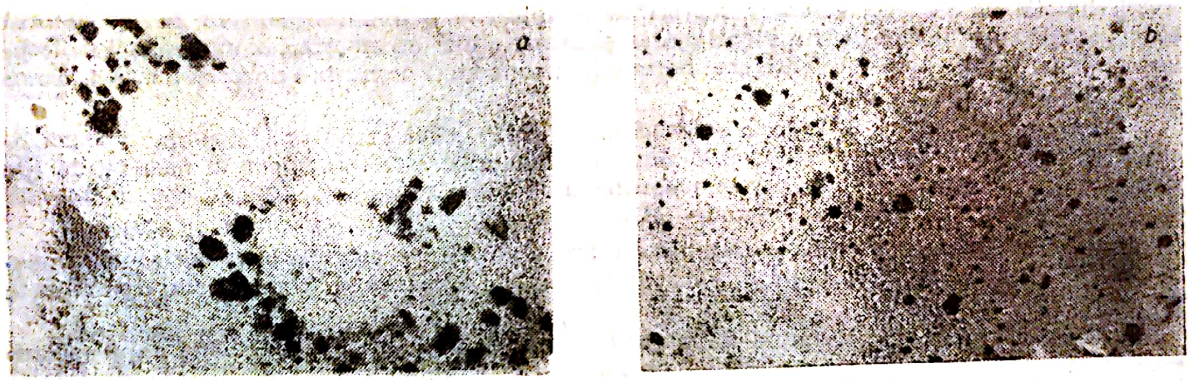


Fig. 291 : Virus rabic colorat cu imunoperoxidază.
a : Antigen viral abundent în citoplasma celulelor (rinichi de embrion bovin) la 7 zile după infecție cu tulpina Pasteur.
b : Incluzii Babeș-Negri în citoplasma neuronilor din cornul lui Ammon în creier de vulpe bolnavă (× 1 000).
(*Atanasiu, P.* și colab).

(ii) evidențierea *Virusului Epstein-Barr*, în celule derivate din limfomul lui Burkitt și cancer nazofaringean ;

(iii) evidențierea *Virusului citomegalic* în infecția genitală la femeia gravidă ;

(iv) în diagnosticul rapid al *turbării* prin evidențierea virusului rabic în amprente din zone de elecție din creier ;

(v) diagnosticul rapid al *virozelor respiratorii* (virus RS, adenovirus, virus gripal etc.) pe celule descuamate din mucoasa tractului respirator ;

(vi) identificarea nucleocapsidelor rujeolice în creier la bolnavi de panencefalită sclerozantă subacută ;

(vii) localizarea papovavirusurilor JC și SV40 în substanță cerebrală din leucoencefalopatia multifocală progresivă ;

(viii) depistarea antigenului Coxsackie B în țesut cardiac și în rinichi la bolnavi decedați după pancardită și nefrită ;

(ix) decelarea antigenului HBs în hepatocit în hepatita cronică ;

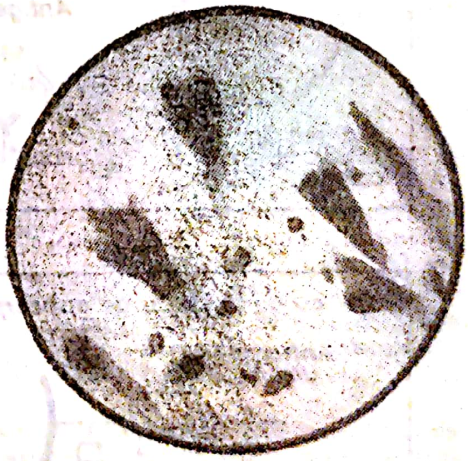


Fig. 292 : Secțiune prin hippocamp la un câine bolnav de turbare. Incluzii Babeș-Negri tipice în citoplasma neuronilor (colorație cu hemalaun și eosină ; × 1 000).

(x) permite diagnosticul rapid al bolii lui Mareck (neurolimfomatoza aviară cauzată de un herpesvirus oncogen), al adenocarcinomului mamar la şoarece (cauzat de oncornavirus tip B), al leucozei aviare (oncornavirus tip C), fibromului Shope la iepure (poxvirus), parvovirusului H1 la hamster etc.

Rezultă din cele de mai sus că diagnosticul infecţiilor virale cronice, persistente şi lente se bazează în primul rînd pe tehnica imunofluorescenţei şi imunoperoxidazei.

b) **Radioimunotestarea** (RIA). Este folosită pentru decelarea şi dozarea Ag HBs şi anti-HBs în legătură cu triajul donatorilor de sînge şi diagnosticul hepatitei tip B.

Tehnicile de *radioimunometrie* reprezintă o aplicaţie a imunosorbenţilor în laboratorul clinic, astăzi larg folosită pentru identificarea şi titrarea, într-un amestec, a unor specii moleculare de mare interes biologic (antigene, hormoni, enzime etc.) permiţînd dozarea a cîteva nanograme substanţă/ml.

Se folosesc tehnicile de *radioimunoprecipitare* (RIP), cînd ambii reactanţi sînt în fază lichidă sau *radioimunoassay* (RIA), cînd unul din reactanţi este imobilizat în fază solidă (pe mărgea din polistiren sau pe peretele eprubetei).

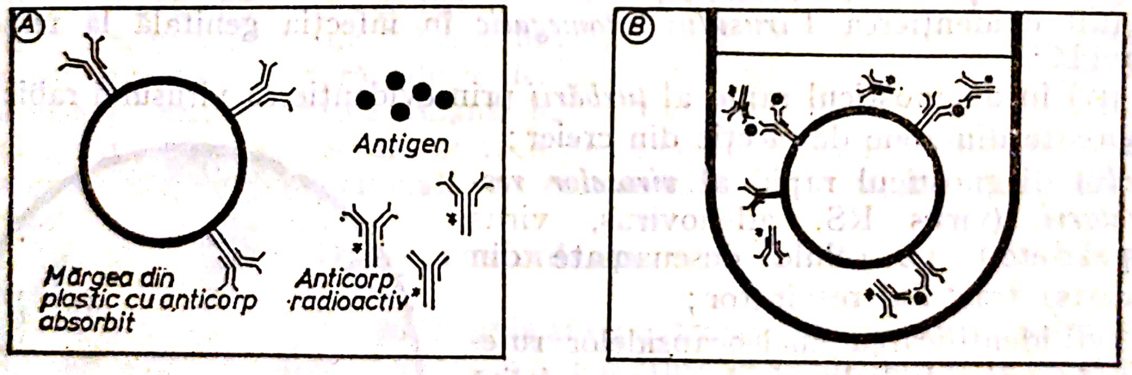
Există două categorii de metode RIA:

(i) *Testul RIA competitiv*, în care antigenul din proba de testat concurează cu antigenul cunoscut marcat radioactiv, aplicat în al doilea timp, pentru ocuparea sediilor anticorp imobilizate pe suportul solid.

În acest caz, radioactivitatea (numărul de impulsuri) rămasă în faza solidă după spălare este *invers* proporţională cu cantitatea de antigen din probă.

(ii) *Testul RIA direct*, necompetitiv, cu dublu anticorp, sau tehnica „în sandwich”, în care antigenul din proba de testat este captat specific de către anticorpii imobilizaţi pe suport şi, în al doilea timp, este măsurat cu un alt anticorp specific, marcat radioactiv.

În acest caz, radioactivitatea rămasă în faza solidă după spălare este *direct* proporţională cu cantitatea de antigen aflată în proba de testat.



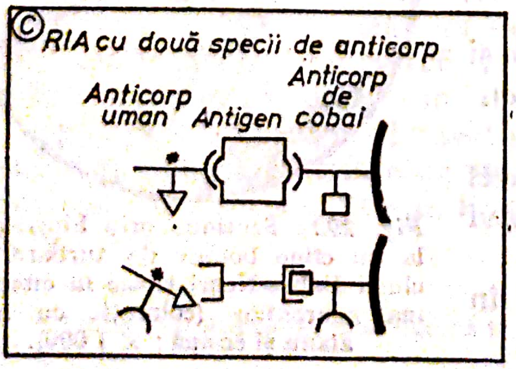


Fig. 293-294: Principiul radioimunotestării (RIA) cu două specii diferite de anticorp (*C*) pentru a se minimaliza reacţii încrucişate posibile cu imunoglobuline (anticorp de cobai imobilizat pe suport şi anticorp uman marcat radioactiv).

Principiul este acelaşi ca în ELISA cu deosebirea că serul indicator este marcat radioactiv şi lectura reacţiei se face pe baza măsurării radioactivităţii (numărul de impulsuri) reţinută în faza solidă.

Are dezavantaje : un procent redus de reacţii fals pozitive care trebuie supuse unei probe suplimentare de confirmare şi necesitatea manipulării reactivilor marcaţi în laboratoare special dotate în acest sens.

Recent a fost realizată o variantă microtehnică de RIA (Micro-SPRIA *).

2. IMUNOELECTRONOMICROSCOPIA ÎN DIAGNOSTICUL RAPID AL VIROZELOR

În principiu constă în agregarea virionilor din produsul de examinat cu ser imun specific şi examinarea complexelor imune formate, după fixare şi „colorare negativă", la microscopul electronic. Este de cca 100 de ori mai sensibilă decît microscopia electronică.

Serul imun folosit trebuie să fie decomplementat (încălzit 30 minute la 56°C) pentru a se evita „viroliza" : formare de găuri în membrana virusurilor învelite (coronavirus, gripal, rubeolic).

Este necesar de realizat un raport de echivalenţă între anticorp şi antigen deoarece excesul de anticorp produce un halou difuz în jurul virionilor care rămîn izolaţi şi cu contur vag delimitat (fenomen „de zonă").

Rezultatele strălucite în laboratorul clinic au fost obţinute în identificarea de virusuri elusive prin alte metode :

(i) decelarea *Ag HBs*, *Ag HBc* şi *particulelor DANE* în ser uman ;

(ii) evidenţierea virusului *rubeolic* în culturi de celule infectate cu produse de la bolnav ;

(iii) identificarea *rhinovirusurilor* (particule virale pline şi capside goale) în secreţii nazale la bolnav de guturai ;

(iv) reperarea *coronavirusului* cu morfologia caracteristică în secreţii nazofaringeene la bolnav cu rinofaringită acută ;

(v) identificarea agenţilor gastroenteritei acute nebacteriene la sugar şi copilul mic ** în extract din materii fecale : 1) *parvovirus* (agentul Norwalk, un virus DNA cu diametrul de 22 nm) şi 2) *reovirus* ;

(vi) identificarea în extract de materii fecale a virusului *hepatitei tip A* ;

(vii) metoda se pretează la diferenţierea virusurilor respiratorii din familia *Orthomyxoviridae* (virus gripal A, B, C) şi familia

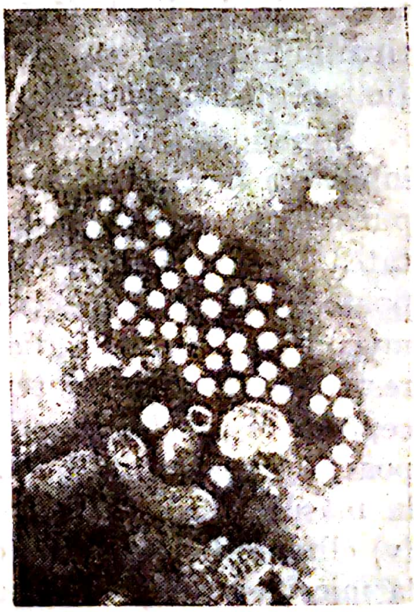


Fig. 295 : Imunoelectronomicroscopia în diagnosticul rapid : particule de virus a hepatitei tip A în materii fecale (contrastare cu fosfotungstat ; × 160 000). (*Almeida, J.D.*)

---

* Micro-Solid Phase Radio Immuno Assay: anticorpul este imobilizat pe suport; se adaugă proba de testat din care este reţinut antigenul; acesta este reperat cu ajutorul serului imun marcat radioactiv.

** Diareea acută de etiologie virală este cauză majoră de morbiditate şi mortalitate în primii ani de viaţă. În zone cu climă temperată 75% din cazurile de diaree a copiilor în lunile de iarnă este dat de *rotavirus*.

Paramyxoviridae (paramyxovirus tip 1, 2, 3, 4; rujeolic; respirator sincițial).

Imunoelectronomicroscopia este o metodă rapidă, are specificitatea reacțiilor antigen-anticorp la care se adaugă avantajul examenului morfologic direct al virionului.

3. SERODIAGNOSTICUL PRIN REACȚIA DE FIXARE A COMPLEMENTULUI

(tehnică unică standardizată* cu multiple antigene)

Pentru majoritatea virusurilor importante în patologia acută la copil și adult se pot prepara antigene utilizabile în decelarea răspunsului în anticorpi fixatori de complement IgM, răspuns relativ precoce și diferențiabili de anticorpii IgG pe baza sensibilității la 2-mercaptoetanol (2—ME) (tabel 128).

Principiu: seruri-pereche (din faza acută și din convalescență) sînt testate simultan pe multiple antigene reprezentînd agenții virali care pot fi cauza sindromului observat. Creșterea titrului anticorpilor va indica agentul etiologic.

Pentru urgentare, reacția poate fi executată și pe probă unică de ser testată în duplicat, fără și după tratare cu 2—ME: reducerea sau anularea titrului în proba tratată cu 2—ME indică activitate anticorp IgM deci infecție recentă cu virusul respectiv.

Superioritatea fixării de complement față de alte tehnici serologice (ex.: inhibarea hemaglutinării) constă în aceea că (i) decelează cu precădere răspunsul mai precoce și tranzitor în anticorp IgM ceea ce îi conferă capacitatea de a face diagnostic de infecție recentă; (ii) o aceeași unică tehnică poate fi aplicată cu zeci de antigene diferite virale, bacteriene, rickettsiene, mycoplasma etc... (tabel 129) grupate în „baterii" pentru boală acută respiratorie, gastro-enterită, meningo-encefalită etc. (tabel 130); (iii) exceptînd testul de hemaglutinare pasivă, RFC este foarte sensibilă deoarece poate decela cantități foarte mici de anticorpi (0,05 μgN/ml); (iv) se pretează la măsurători cantitative diferențiind satisfăcător răspunsul IgM și IgG, (v) elimină fenomenele de prozonă și post-zonă, (vi) este perfect adaptabilă la microtehnici și automatizare.

Cuplată cu metoda imunoperoxidazei sau imunoelectronomicroscopiei, aduce confirmarea etiologiei prin demonstrarea dinamicii anticorpilor serici specifici.

---

* Tehnica pe plăci cu godeuri după Bradstreet și Taylor (1962) sau microtehnică tip Takatsy-Sever. Este irațional, inutil, și generează confuzii a se recomanda tehnici diferite de fixare a complementului pentru variate antigene și în primul rînd pentru antigene reprezentînd agenți cauzatori ai aceleiași manifestări clinice. Din 1960 tehnica Bradstreet și Taylor este folosită în mod sistematic în laboratorul de virologie al IMF Iași. În 1975 a fost adoptată ca standard național.

Tabelul 128

Infecţii diagnosticate serologic prioritar prin reacţia de fixare a complementului

I. *VIROZE:* Respiratorii şi ale parotidei	— Gripa A, B, C
	— Paragripa
	— Infecţii cu virus respirator sinciţial
	— Adenoviroze
	— Coriza acută epidemică (guturai)
	— Parotidita epidemică
Neuroviroze	— Poliomielita
	— Infecţii cu virus Coxsackie
	— Infecţii cu virus Echo
	— Meningita cu virus urlian
	— Choriomeningita limfocitară
Arboviroze	— Meningoencefalita centrală europeană
	— Meningoencefalita rusă de primăvară-vară
	— Febra papattacii
	— Febra Vest Nil
	— Encefalita Japoneză B
	— EEE
	— WEE, VEE
	— Febra galbenă
	— Denga
	— Febra din valea Rift
	— Febra de căpuşă din Colorado
	— Encefalita din California
	— Encefalita de St. Louis etc.... etc.
Viroze eruptive	— Vaccina
	— Varicela
	— Zona Zoster
	— Rujeola
	— Rubeola
	— Sindrom rubeolic congenital
	— Infecţia primară cu virus herpes simplex
	— Boala incluziilor citomegalice
	— Febra aftoasă
II. *MICOZE:* (profunde, sistemice)	— Coccidioidoza (Coccidioides immitis)
	— Histoplasmoza (Histoplasma capsulatum)
	— Blastomicoza (Blastomyces dermatitidis)
	— Paracoccidioidoza (Blastomyces brasiliensis)
	— Dermatofiloza (Dermatophilus penetrans)
III. *PARAZITOZE:*	— Schistosomiaza (S. mansoni şi S. haematobium)
	— Paragonimiaza (Paragonimus westermani)
	— Tripanosomiaza (Boala lui Chagas) (Tr. cruzi)
	— Toxoplasmoza (Toxoplasma gondii)
IV. *BACTERIOZE:* Rickettsioze	— Febra Q (Tifosul pulmonar)
	— Grupul tifos exantematic (R. prowazeki şi R. mooseri)
	— Grupul febrelor pătate (F. munţilor stîncoşi, f. butonoasă, rickettsioza variceliformă)
Chlamydioze (Psitacoză-LGV-TRIC)	— Psitacoză-ornitoză
	— Limfogranulom venerian
	— Trachom
	— Conjunctivita cu incluzii
Mycoplasmoze	— Pneumonia atipică primară (Myc. pneumoniae)
Spirochetoze	— Sifilis
	— Leptospiroze (grup)
Bacterioze propriu-zise	— Gonococii cronice
	— Tusea convulsivă
	— Febrele tifoide
	— Şancrul moale
	— Bruceloza

Tabelul 129

Antigene fixatoare de complement utilizate pentru serodiagnosticul diferenţial al infecţiilor acute respiratorii (inclusiv pneumonia interstiţială)

Grupa de agenţi etiologici	Antigene* (tulpini recomandate)
VIRUSURI	— Virus grupal A (solubil; specific de tip)
	— Virus gripal B (solubil; specific de tip)
	— Virus gripal C (solubil; specific de tip)
	— Virus paragripal 1 (tulpina C-39)
	— Virus paragripal 1 (tulpina Sendai)
	— Virus paragripal 3 (tulpina Greer)
	— Virus paragripal 2 (tulpina C-243)
	— Virus paragripal 4 (tulpina M-25)
	— Virus respirator sinciţial (tulpina Long)
	— Adenovirus (specific de grup)
	— Coronavirus (tulpina OC-43)
RICKETTSIA	— Coxiella burneti (faza II)
CHLAMYDIA	— Chlamydia psittaci (tulpina DD-34)
MYCOPLASMA	— Mycoplasma pneumoniae (tulpina FH-LIU)

* Componenţa ,,bateriei" de antigene poate varia în raport de vîrstă, sezon etc.

Tabelul 130

Antigene fixatoare de complement (FC) utilizate pentru serodiagnosticul meningitelor* ,,cu lichid clar" **

Grupa de agenţi	Antigene F*** (tulpini recomandate)
VIRUSURI	— Poliovirus tip 1 (Mahoney)
	— Poliovirus tip 2 (MEF-1)
	— Poliovirus tip 3 (Saukett)
	— Echovirus tip 4 (Pesascek)
	— Coxsackie A tip 2, 4, 7, 10, 16
	— Urlian — solubil (tulpina Enders)
	— viral (tulpina Enders)
	— Rujeolic (tulpina Philadelphia/26)
	— Herpetic (tulpina Macintyre)
	— Varicela-Zoster (tulpina CP5 sau 262)
	— Choriomeningitei limfocitare (tulpina Armstrong)
	— Adenovirus (specific de grup)
	— Encefalita de căpuşă Central Europeană (tulpina Hypr) ****
MYCOPLASMA	— Mycoplasma pneumoniae (tulpina FU-LIU)
LEPTOSPIRE	— Leptospira biflexa patoc

---

* Însoţite sau nu de encefalită ori mielită;

** Prezentîndu-se ca principală manifestare a bolii ori asociat unei boli infecţioase cu alte manifestări predominante;

*** Componenţa ,,bateriei" de antigene poate varia în raport de vîrstă, sezon, arie geografică etc.

**** Nu sînt menţionate în tabel numeroasele antigene fixatoare de complement destinate serodiagnosticului encefalitei transmise de artropode pe alte continente.

4. IZOLAREA ŞI IDENTIFICAREA VIRUSULUI

Folosind sistematic trei tipuri de celule, WI—38 *, HeLa ** şi MK-primare ***, în varianta microtehnică, inoculate cu produse patologice recoltate de la bolnav şi urmărite pentru efect citopatic caracteristic, *aproximativ 80% din izolările de virus* (confirmate ulterior prin teste de identificare) pot fi raportate clinicianului în decurs de *o săptămînă* de la primirea produsului.

5. PROBLEME SPECIALE DE DIAGNOSTIC ÎN LABORATORUL CLINIC DE VIRUSOLOGIE

a) **Infecţiile congenitale şi perinatale** prezintă interes considerabil în legătură cu soarta şi calitatea produsului de concepţie.

În raport cu natura consecinţelor şi cu modalităţi de diagnostic, se clasifică în: (i) *infecţiile intrauterine precoce* (în primul trimestru) care sînt responsabile de malformaţii congenitale şi infecţii persistente, (ii) *infecţii intrauterine tardive* (după luna a 6-a) şi (iii) *infecţii neonatale* (care survin imediat înainte, în timpul sau imediat după naştere) şi cauzează de regulă infecţii diseminate, sistemice, cu mortalitate mare.

Diagnosticul de laborator este baza profilaxiei infecţiilor congenitale şi cuprinde teste speciale, bazate pe metode descrise mai sus, grupate ţinînd seama de agenţii implicaţi sub denumirea de „*Complexul TORCH*": *T*oxoplasma, *R*ubeola, *C*itomegalovirus, *H*erpes simplex tip 1 şi 2 (tabel 131 şi 132; fig. 290).

Amniocenteza, practicată în trimestrul 2 de sarcină în unităţi medicale calificate în acest scop, în afară de posibilităţile diagnosticului intrauterin (prenatal) a defectelor genetice (sindromul lui Down, defecte metabolice etc.), permite stabilirea diagnosticului de infecţie virală folosindu-se lichidul amniotic şi celule embrionare descuamate.

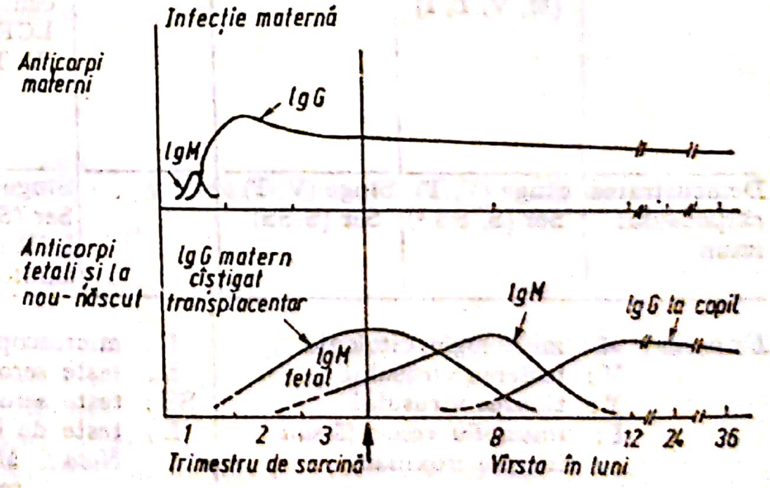


Fig. 296: Secvenţa răspunsurilor în anticorpi serici IgM şi IgG în infecţia rubeolică materno-fetală. (*Mayer, H.M.* şi colab.)

---

* Wistar—38: **tulpină** de celule diploide umane derivată din fibroblaşti pulmonari de embrion uman.

** HeLa: **linie** de celule derivate din carcinom de col uterin, de la bolnava *Henriette Lack*.

*** Culturi **primare** de rinichi de maimuţă rhesus.

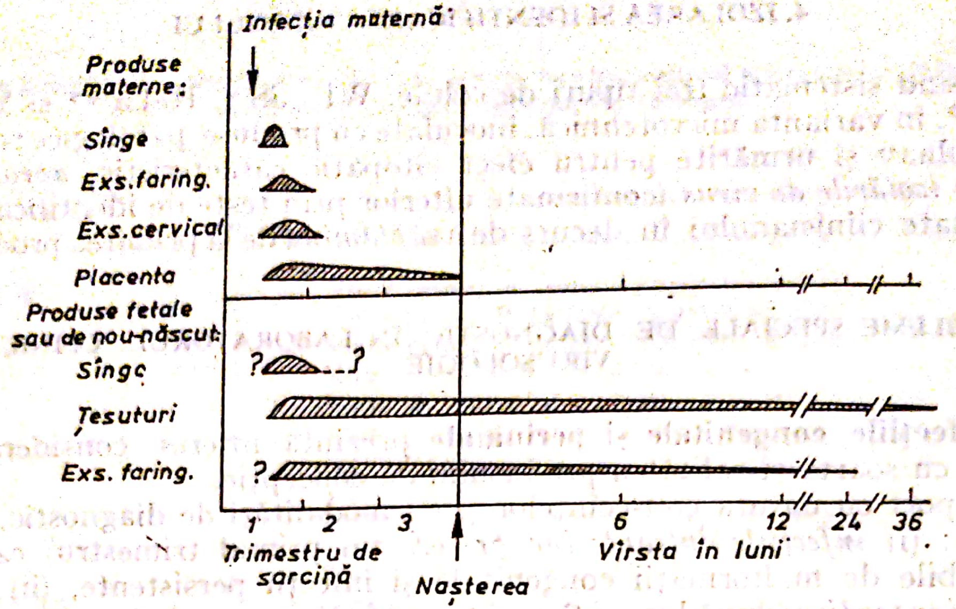


Fig. 297: Prezența virusului în diferite produse materne, fetale sau la nou-născut în infecția rubeolică (*Mayer, H.M.* și colab.).

Tabelul 131

Diagnostic de laborator al infecției HSV, CMV, EBV

	Mama[1]	Avorton sau mort născut	Lichid amniotic	Nou-născut		
				viu		la necropsie
				Epidemiologic suspect	Clinic suspect	
Evidențierea virusului	Leziuni genitale sau alte localizări în cursul sarcinii[2] (M, V, T, I)	Placenta, organe fetale (M, V[3] T, I, E)	(M, V, T, I, E)	Placenta (M, V, T, I, E) Faringe, ochi, urină, LCR[2] (V, T, I)	Placenta (M, V, T, I, E) Leziuni[2] (M, V, T, I, E) Faringe, ochi, urină, LCR[2] (V, T, I, E)	Organe multiple (M, V[3], T, I, E) Leziuni (M, V, T, I, E) Faringe, ochi, urină, LCR (V, T, I, E)
Demonstrarea răspunsului imun	Sînge (V, T) Ser (S, SS[2])	Sînge (V, T) Ser (S,SS)		Sînge (V, T) Ser (S, SS[2]) LCR (S,SS[2]) Limfocite(L)[2]	Sînge (V, T)[2] Ser (S, SS[2]) LCR (S, SS[2]) Limfocite(L)[2].	Sînge (V, T) Ser (S, SS) LCR (SS) Limfocite (L)

Examene:
M: morfologie, citologie
V: izolarea virusului
T: tiparea virusului
I: imunofluorescență sau imunoperoxidază
E: microscopie electronică
S: teste serologice convenționale
SS: teste serologice specializate
L: teste de imunitate celulară

Notă: M, V, I, S și eventual I pot fi de resortul laboratorului clinic

---

[1] Studiul similar al partenerului sexual în cursul sarcinii poate fi de asemenea util
[2] Repetarea examenelor este uneori necesară
[3] Titrarea virusului în organe sau în sînge este indicată

HSV: virus herpes simplex. CMV: citomegalovirus. EBV: Epstein-Barr virus (după Nahmias, 1976)

Tabelul 132

Date reprezentative în serodiagnosticul rubeolei

Bolnav	Ziua recoltării serului*	Titrul anticorpilor		
		Neutralizanți	Inhibitori ai hemaglutinării	Fixatori de complement
A	1	2	<8	<8
	23	16	1 024	32
B	4	2	128	<8
	15	4	4 096	<8
C	6	16	512	<4
	30	16	1 024	16

* Ziua recoltării serului în raport cu debutul rașului (după *Mayer, M. H.* și colab., 1972).

b). **Infecții nozocomiale** *. Multiple virusuri, în condiții permisive de organizare și funcționare a unităților medico-sanitare, pot cauza îmbolnăviri cu caracter nozocomial („de spital", „de salon", „de cabinet") ca de exemplu hepatita tip B, infecții cu CMV și E—B virus, keratoconjunctivita cu adenovirus, viroze respiratorii în special gripa, virus RS, parainfluenza, gastroenterita cu rotavirus sau parvovirus și altele (tabel 133).

Tabelul 133

Infecții virale mai importante cu caracter posibil nosocomial

Mod de transmitere comun	Boala
Aerogenă	Boli acute respiratorii: — virusuri gripale — virusuri paragripale — virus respirator sincițial — adenovirusuri (unele tipuri) — rhinovirusuri — Coxsackie A (unele tipuri) — Coxsackie B (unele tipuri) Rujeola Rubeola Varicela Variola Febra de Lassa Febra hemoragică africană (Marburg/Ebola)
Alimentară (calea fecal-orală)	Hepatita virală tip A Febra de Lassa Infecții enterovirale Gastroenterita virală
Parenterală (prin inoculare * sau altă procedură de tratament) sau obscură (percutană interpersonală)	Hepatita virală (tip B, tip A, alte)[1] Febra hemoragică africană (Marburg/Ebola)[1] Citomegalovirus[1] Epstein-Barr virus[1] Keratoconjunctivita cu adenovirus 8, 19, 29 etc.[2] Conjunctivita hemoragică cu enterovirus 70 și Coxsackie A 24[2]

* Este suficient virus în 0,000025 ml sînge, ser, plasmă pentru a transmite hepatita tip B.
[1] Transfuzie de sînge, transplante de organe, hemodializă, acupunctură.
[2] În oftalmologie.

---

* Nozocomială este infecția sau boala cauzată ori agravată de spitalizare.

Laboratorul clinic, diagnosticînd sistematic de exemplu hepatita tip B şi înregistrînd agregarea cazurilor în timp şi spaţiu, poate indica locul unde şi procedura prin care se produce „epidemia". (Procedîndu-se în acest fel, în 1978 în Anglia, a fost evidenţiat „cabinetul de terapie prin acupunctură" generator al unei epidemii). Metodologie similară stă la baza controlului şi profilaxiei majorităţii infecţiilor virale nozocomiale.

Sîngele recoltat şi manipulat în mod necorespunzător în vederea examenelor de laborator, ca şi martorii de ser sau plasmă umană folosiţi pentru teste biochimice, hematologice etc. constituie de asemenea o cale importantă de difuzare a infecţiei hepatitice.

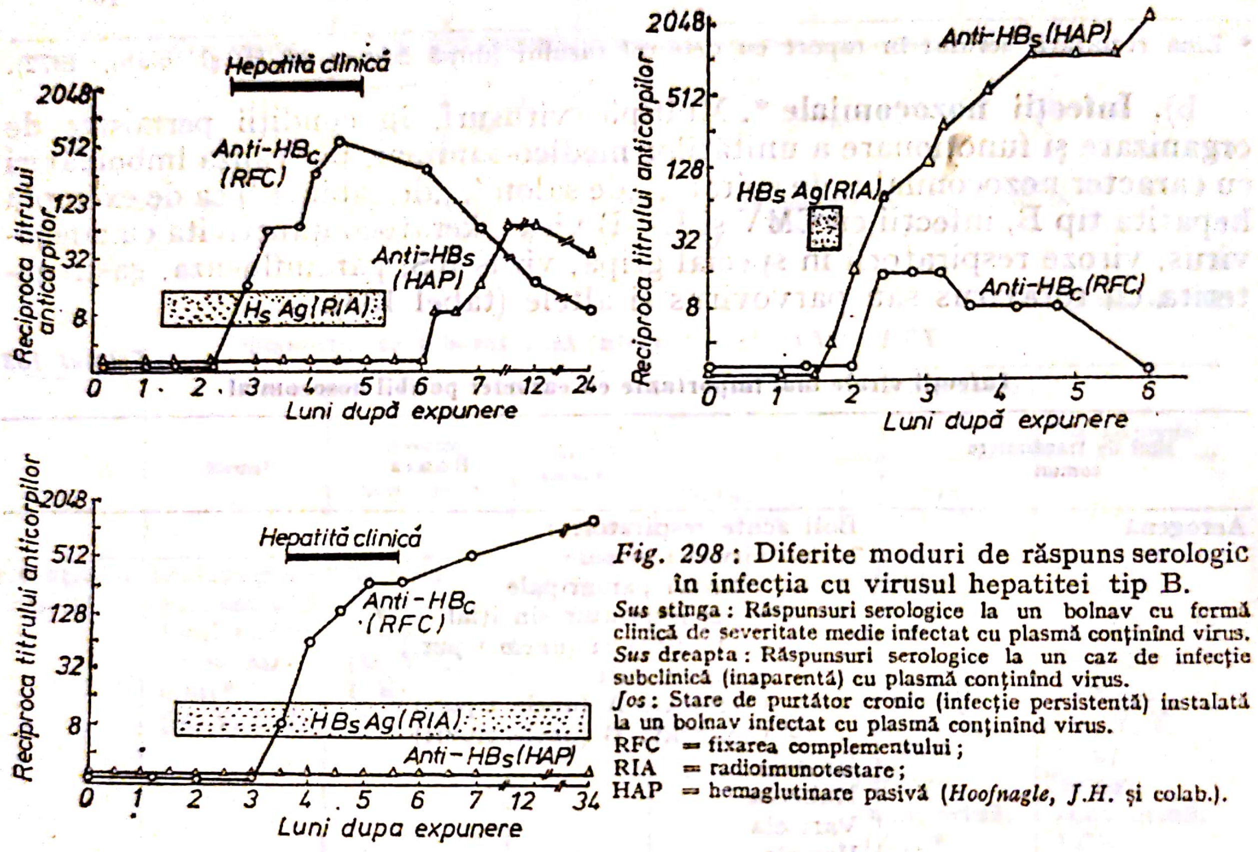


Fig. 298 : Diferite moduri de răspuns serologic în infecţia cu virusul hepatitei tip B.
Sus stînga : Răspunsuri serologice la un bolnav cu formă clinică de severitate medie infectat cu plasmă conţinînd virus.
Sus dreapta : Răspunsuri serologice la un caz de infecţie subclinică (inaparentă) cu plasmă conţinînd virus.
Jos : Stare de purtător cronic (infecţie persistentă) instalată la un bolnav infectat cu plasmă conţinînd virus.
RFC = fixarea complementului;
RIA = radioimunotestare;
HAP = hemaglutinare pasivă (*Hoofnagle, J.H.* şi colab.).

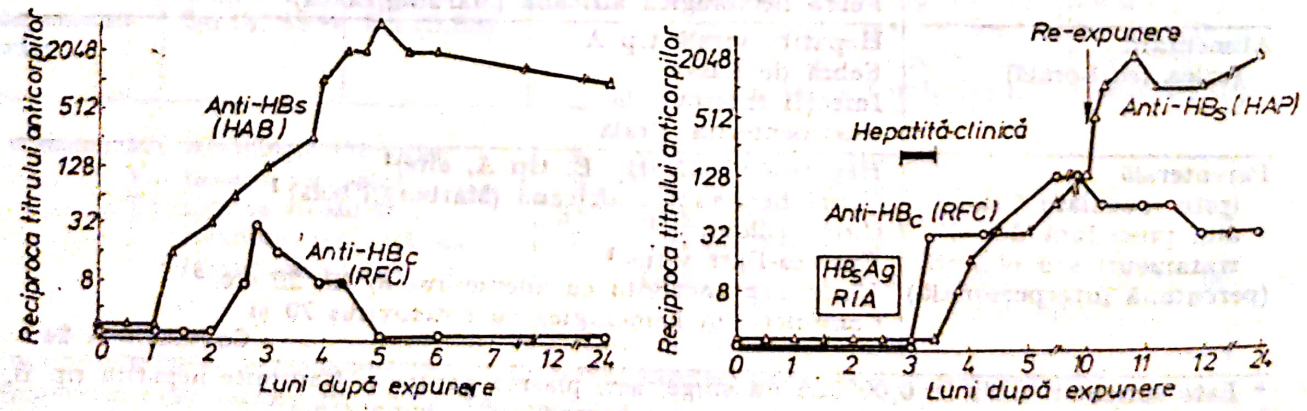


Fig. 299 : Diferite moduri de răspuns serologic în infecţia cu virusul hepatitei tip B.
Stînga : Răspuns de tip primar.
Dreapta : Răspuns de tip primar şi de tip secundar la reexpunerea, după 10 luni, la plasmă infectată (*Hoofnagle, J.H.* şi colab).

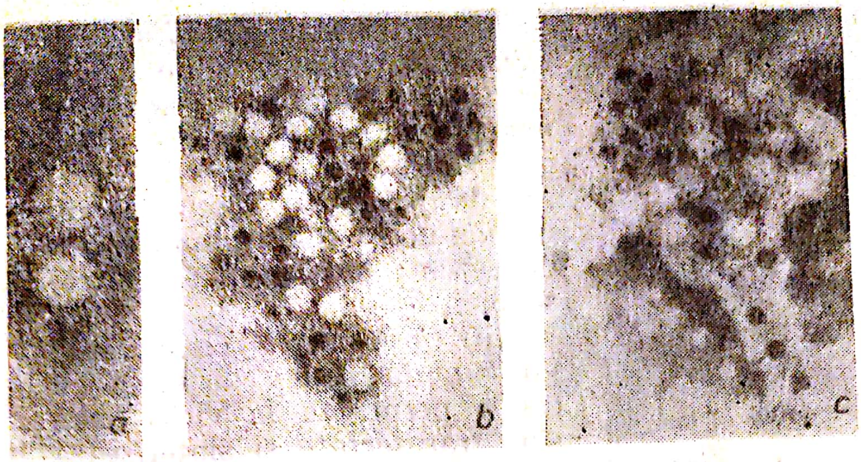


Fig. 300 : Imunoelectronomicroscopia cu enterovirusuri.
a : Doi virioni legați prin molecule anticorp (× 240 000).
b, c : Complexe imune virus-anticorp (× 135 000) (*Doane, F.W.*).

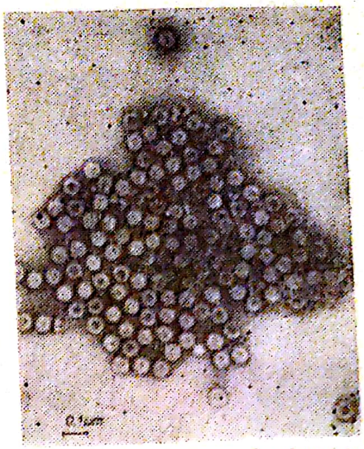


Fig. 301 : Imunoelectronomicroscopia în diagnosticul rapid al gastroenteritei infantile cu rotavirus.
(Fracțiune din sediment de materii fecale în gradient CsCl : agregat de particule uniforme, pline și goale)
(*Grauballe, P.C.* și colab.)

c) **Infecțiile virale lente, persistente și cronice.** În ultimii ani, au fost aduse probe despre rolul virusurilor în *boli cronice ale sistemului nervos central* care, în general, pot fi grupate în : (i) Manifestări cauzate de un virus convențional dar care a instituit un tip patogenetic particular de infecție persistentă : 1) PESS cauzată de virus rujeolic și, posibil, rubeolic (tabel 134) ; 2) malformații congenitale produse de infecția intrauterină precoce cu virus rubeolic, CMV ; 3) encefalita progresivă cu arbovirus ; 4) leucoencefalopatia multifocală progresivă produsă de papovavirusurile JC și SV40.

(ii) Manifestări cauzate de agenți neconvenționali, virusurile lente, cum sînt așa-numitele ,,demențe virale transmisibile'' : 1) boala Creutzfeldt-Jacob, 2) boala Kuru și 3) demențele senile.

Alte boli ale SNC ca de exemplu scleroza multiplă și scleroza laterală amiotrofică, în care încă nu s-a stabilit etiologia, este posibil să facă parte din aceleași categorii.

De asemenea, și alte boli cum sînt nefrozonefrita, artrita reumatoidă, lupus eritematos sistemic etc. ar putea fi considerate în acest context.

Metodologia diagnosticului de laborator în aceste manifestări, în care de regulă virusul stabilește relații speciale cu celula gazdă *(infecții neproductive)*, presupune tehnici speciale de evidențiere a virusului sau antigenului viral constînd în principal din :

Tabelul 134

Caracteristici virologice ale rujeolei și panencefalitei sclerozante subacute (PESS)

	PESS	Rujeola
Anticorpi serici * :		
IH	+ la ++	+
Neutralizanți	+ la ++	+
FC	+ la ++	+
Anticorpi în LCR	+	0
Izolarea virusului :		
exsudat faringean	0	+
urină	0	+
sînge	0	+
LCR	0	0
creier	+	0

* IH = anticorpi evidențiați prin reacția de inhibare a hemaglutinării ;
FC = anticorpi evidențiați prin reacția de fixare a complementului
(după *Mayer, M. H.* și colab., 1972)

Fig. 302: Adenocarcinom mamar la șoarece: antigene virale specifice identificate cu imunoperoxidază intracitoplasmic în celule acinare (*Thomas, J.A.* și colab.).

(i) *Stabilirea de culturi de celule* din fragmente de creier proaspăt recoltat prin biopsie și urmărirea apariției efectului citopatic (ex.: sinciții etc.) sau de antigene virale cu ajutorul imunofluorescenței, imunoperoxidazei sau imunoelectronomicroscopiei.

(ii) *Cocultivarea* celulelor nervoase de la bolnav de PESS cu celule permisive la virus (care sînt transfectate și sintetizează virus matur, complet) ca de exemplu celule HeLa, celule BS—C1 etc.

(iii) *Fuziune celulară* între celulele nervoase de la bolnav și celule permisive (ex.: celule AGMK = rinichi de maimuță verde africană) folosind ca „factor de fuziune" virus Sendai inactivat.

În diagnosticul PESS o valoare semnificativă are prezența anticorpilor anti-rujeolici în LCR (tabel 134).

d) **Virusurile oncogene umane.** În leucemia acută mielocitară (cauzată de oncornavirus tip C), cancerul de sîn (determinat de oncornavirus tip B) ca și în tumorile maligne produse de herpesvirusuri (limfomul lui Burkitt și carcinomul nazofaringean cu virus Epstein-Barr) virusul stabilește în celule de regulă o infecție latentă, neproductivă, cu genom viral integrat în genomul gazdă.

Punerea în evidență a virusului încapsidat sau antigenelor virale specifice (structurale sau nestructurale) poate fi încercată prin metodele descrise mai sus pentru infecția virală persistentă la care se adaugă *metoda citohibridizării cRNA/DNA*, singura capabilă să deceleze genom viral integrat și represat în celule provenind din tumori sau *din stări precanceroase*, pînă în prezent.

Progresele tehnice recente permit aplicarea metodei în diagnosticul clinic.

Principiul metodei, care nu este imunologic, constă din folosirea unui RNA complementar (cRNA) radiomarcat ca indicator pentru decelarea secvențelor DNA viral în produse celulare.

cRNA este sintetizat *in vitro* * cu RNA polimerază-DNA dependentă de *E. coli*, folosind drept matriță pentru sinteză DNA viral.

---

* Matrița DNA viral, DNA polimeraza de *E. coli* și un amestec din cei patru nucleozid-trifosfați, ATP, GTP, CTP și UTP, dintre care ultimul este marcat cu tritiu, se amestecă în tampoane adecvate și se ține 2 ore la 37°C. După sinteza cRNA, matrița DNA este eliminată prin digestie cu DNază și cRNA este supus purificării prin cromatografie.

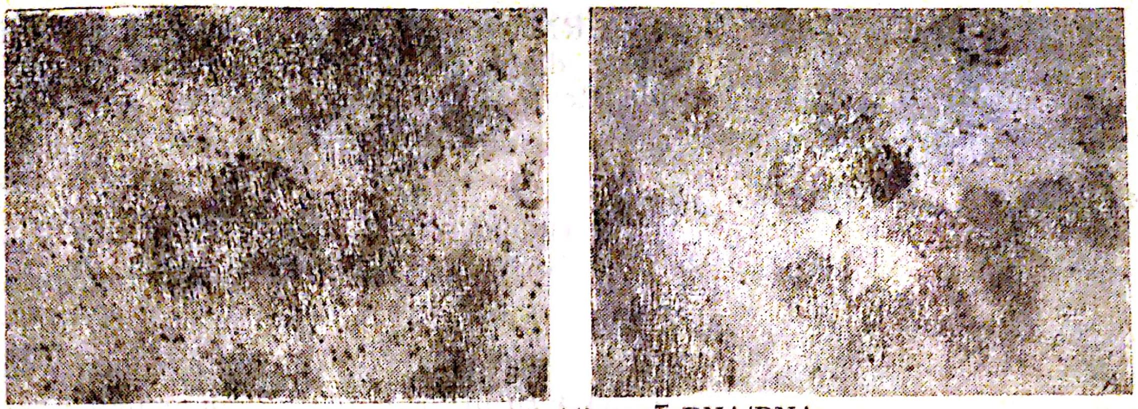


Fig. 303 : Citohibridizarea cRNA/DNA

DNA al virusului Epstein-Barr evidenţiat în linie de celule limfoide derivate din singe de bolnav de mononucleoză infecţioasă X 1000 (Pagana J.S. şi Huang, E.-.S).

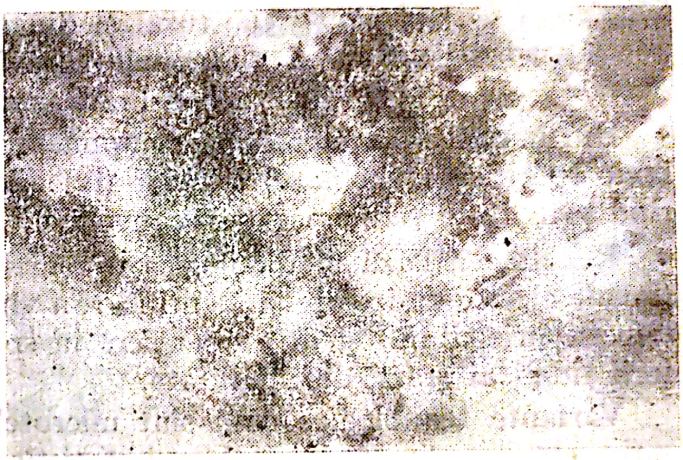


Fig. 304 : Citohibridizare cRNA /DNA cu virus Citomegalic aplicată pe ţesut pulmonar; se vede o celulă intens pozitivă (× 1 000) (*Pagano, J.S.* şi *Huang, S.-E.*).

Citohibridizarea cRNA/DNA se poate executa folosind (i) tehnica convenţională în care DNA extras din ţesuturi sau celule este imobilizat pe membrane filtrante sau (ii) varianta ,,in situ'' în care cRNA indicator este aplicat direct pe celule fixate.

Tehnica convenţională este extrem de sensibilă (permite decelarea pînă la echivalenţii a 2—3 genoame virale per celulă) şi explorează întreaga cantitate de DNA tisular în schimb tehnica ,,in situ'' permite localizarea topografică a DNA viral, uneori indicînd cromozomul implicat.

Pînă în prezent, experienţă mai largă a fost obţinută în infecţii latente cu DNA virusuri: SV-40, EBV, CMV, HSV.

Provirusul DNA al oncornavirusurilor tip C sau tip B, integrat în celule aparent normale sau transformate, poate de asemenea fi decelat cu ajutorul cRNA.

Reverstranscriptaza ar permite obţinerea de *cDNA* utilizabil ca indicator pentru decelarea secvenţelor de RNA viral în ţesuturi prin citohibridizare

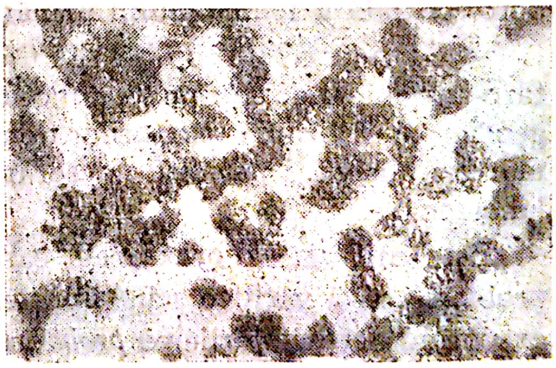


Fig. 305 : Infecţie cu DNA virus citomegalic în spermatozoizi decelată prin citohibridizare cu cRNA (× 1 000) (*Pagano, J.S.* şi *Huang, S.-E.*)

cDNA/RNA, ceea ce va fi deosebit de util pentru diagnosticul PESS, sclerozei multiple etc.

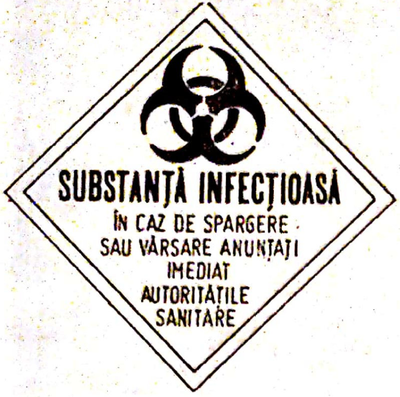

SUBSTANȚĂ INFECȚIOASĂ
ÎN CAZ DE SPARGERE SAU VĂRSARE ANUNȚAȚI IMEDIAT AUTORITĂȚILE SANITARE

Fig. 306: Vigneta adoptată de Organizația Mondială a Sănătății pentru a se semnala containere transportînd produse infecțioase primejdioase.

C. LABORATORUL DE VIRUSOLOGIE SANITARO-ANTIEPIDEMIC

Este preocupat de (i) supravegherea circulației virusurilor potențial epidemigene care au deci la bază *ciclul productiv* de replicare și *transmisia orizontală* și (ii) de studiul structural și dinamic al stării de imunitate a populației avînd la bază tehnici serologice de măsurare a anticorpilor specifici.

Din impactul acestor două componente rezultă (iii) programe de profilaxie specifică (vaccinare) a căror (iv) eficacitate este evaluată în primul rînd prin teste serologice (seroconversie).

Rezultă că baza metodologică o constituie în special tehnicile convenționale clasice de izolare și identificare a virusurilor încapsidate (capabile de infecție orizontală) și de evidențiere în special a anticorpilor IgG, indicatorii fideli ai stării de imunitate.

Variante tehnologice cum sînt microtehnici, mecanizarea și automatizarea etc. permit studii pe loturi statistic reprezentative.

Spre deosebire de laboratorul clinic, laboratoarele din sistemul de supraveghere epidemiologică pot eventual avea *caracter monoproblematic* (ex.: arbovirusuri).

— Standardizarea reactivilor și tehnicilor folosite în supravegherea circulației virusurilor în teritoriu de către laboratoarele epidemiologice este indispensabilă pentru ca datele obținute în laboratoare diferite să fie comparabile și pe baza acestora să se poată construi reprezentarea temporo-spațială a fenomenului urmărit în dinamică.

— Controlul de calitate atît în laboratorul clinic cît și sanitaro-antiepidemic, nu poate funcționa fără standardizarea metodelor și reagenților și utilizarea martorilor de referință. Numai folosirea permanentă de martori adecvați permite micșorarea erorilor intratest, interteste și interlaboratoare.

Este util ca, laboratoarele care sînt antrenate în urmărirea acelorași probleme să-și verifice sensibilitatea și specificitatea metodelor și tehnicilor executînd determinările pe *probe codificate*, preparate de instituția coordonatoare. Rezultatele primite, după centralizare, permit scoaterea în evidență a diferențelor, analiza cauzelor și remedierea deficiențelor, deci progresul continuu.

BIBLIOGRAFIE

1. ABBOTT R., CHINAYON S., REESAL M.R. Radioimmunoassay of Human Growth Hormone and Insulin. A Micromethod Using an Inexpensive Gamma Counter. *Amer. J. Clin. Path.*, *59*, 2, 174–180, 1973.
2. AYMARD M.: Comparison of Immunological Methodes in the Diagnosis of Influenza. *Bull. Inst. Pasteur*, Paris, *75*, 4, 309–321, 1977.
3. BARKER L.F., PETERSON M.R., SHULMAN N.R., MURRAY R.: Antibody Responses in Viral Hepatitis Type B. *J.A.M.A.*, *223*, 9, 1005, 1973.
4. BRADSTREET M.P., TAYLOR C.E.D.: Technique of Complement Fixation Test Applicable to the Diagnosis of Virus Diseases. *Monthly Bull. of the Ministry of Health and Public Health Laboratory Service*, 2, 96, 1962 și *Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat.* Iași, *81*, 1, 141–150, 1977.
5. BROOKER G., TERASAKI W.L., PRICE M.G.: Gammaflow: A Completely Automated Radioimmunoassay System. *Science*, *194*, 270–275, 1976.
6. CULLITON B.J.: Amniocentesis: HEW Backs Test for Prenatal Diagnosis of Disease. *Science*, *190*, 537–540, 1975.
7. DAVIDSON G.P., BISHOP R.F., TOWNLEY, R.R.W., HOLMES I.H., RUCK B.J.: Importance of a New Virus in Acute Sporadic Enteritis in Children. *Lancet*, *1*, 242–246, 1975.
8. DAUGHARTY H., DAVIS M.L., KAYE H.S.: Immunoglobulin Class of Influenza Antibodies Investigated by RIA. *J. Immunol.*, *109*, 4, 849, 1972.
9. DUCA M., DUCA E., BERNESCU E., MOROȘANU V.: Criterii pentru utilizarea unei tehnici unice de fixare a complementului în serodiagnosticul bolilor infecțioase (virale, bacteriene, micotice și parazitare). *Rev. Med. Chir., Soc. Med. Nat.* Iași, *80*, 2, 283–292, 1976.
10. GARDNER P.S.: Rapid Virus Diagnosis. *J. Gen. Virol.*, *36*, 1, 1–29, 1977.
11. HERRMANN E.C.J., HERRMANN J.A.: Survey of Viral Diagnostic Laboratories in Medical Centers. *J. Infect. Dis.*, *133*, 3, 359–362, 1976.
12. HOSONO M., MURAMATSU S.: Use of 2-ME for Distinguishing Between IgM and IgG, Antibody-producing Cells of Mice Immunized with Bovine γ-Globulin. *J. Immunol.* *109*, 4, 857, 1972.
13. MADELEY C.R.: *Guide pour le prélèvement et le transport des échantions dans les maladies à virus, rickettsiae et chlamydiae. Org. Mond. Santé*, Geneva, 1977.
14. MILLER W.J., PROVOST P.J., Mc. ALEER W.J., ITTENSOHN O.L., VILLAREJOS, V.M., HILLEMAN M.R.: Specific Immune Adherence Assay for Human Hepatitis A Antibody, Application to Diagnostic and Epidemiologic investigations. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, *149*, 254–261, 1975.
15. OLDING-STENKVIST E., BJORNVATN B. Rapid Detection of Measles Virus in Skin Rashes by Immunofluorescence. *J. Infect. Dis.*, *134*, 5, 463, 1976.
16. OLITZKY I.: Automated Complement Fixation with Low Reagent Consumption. *Appl. Microbiol.*, *24*, 2, 208, 1972.
17. PALMER D.F., COLEMAN M.T., DOWDLE W.P., SCHILD G.C.: *Advanced laboratory techniques for influenza diagnosis*. U.S. Dpt Hlth Ed. Wlf., Public Hlth Serv., Center for Disease Control, Atlanta, 1975.
18. PEKAREK J., KREJČI J.: Survey of the Methodological Approaches to Studying Delayed Hipersensitivity *in vitro*. *J. Immunol. Methods.*, *6*, 1–22, 1974.

19. PROVOST P.J., ITTENSOHN O.L., VILLAREJOS V.M., HILLEMAN M.R.: A Specific Complement – Fixation Test for Human Hepatitis A Employing CR 326 Virus Antigen. Diagnosis and Epidemiology. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, *148*, 962–969, 1975.

20. PYHÄLÄ R., KLEEMOLA M.: The Value of Complement Fixation and Haemagglutination Inhibition Tests in the Diagnosis of Influenza A. *Acta Virol.*, Praga, *20*, 1, 66–69, 1976.

21. SCHIMDT N.J., LENNETTE E.H.: Advances in the Serodiagnosis of Viral Infections. *Progr. Med. Virol.*, *15*, 244–308, 1973.

22. SEVER J.L., HUEBNER R.J., CASTELLANO G.A., BELL J.A.: Serological diagnosis „en masse" with Multiple Antigens. *Amer. Rev. Resp. Dis.*, *88*, suppl., 342–359, 1963.

23. SIMPSON D.I.H.: *Infections à virus Marburg et Ebola: Guide pour leur diagnostic, leur traitement et leur prophylaxie.* Org. Mond. Santé, Genève, 1977.

24. SMITH J.S., YAGER P.A., BAER G.M.: Laboratory Techniques in Rabies. *W.H.O. Monograph.*, *23*, 1973.

25. STEELE R.W., SUTTLE D.E., Le MASTER P.C., PATTERSON F.D., CANALES L.: Screening for Cell-Mediated Immunity in Children. *Amer. J. Dis. Child.*, *130*, 11, 1218, 1977.

26. SZMUNESS W., DIENSTAG J.L., PURCELL R.H., HARLEY E.J., STEVENS C.E., WONG D.C.: Distribution of Antibody to Hepatitis A Antigen in Urban adult Populations. *N. Engl. J. Med.*, *295*, 14, 755, 1976.

27. TSUDA F., TAKAHASI T., TAKAHASHI K., MIYAKAWA Y., MAYUMI M.: Determination of Antibody to Hepatitis B Core Antigen by Means of Immune Adherence Hemagglutination. *J. Immunol.*, *115*, 834–838, 1975.

28. VOLLER A., BIDWELL D.E., BARTLETT A.: Enzyme Immunoassay in Diagnostic Medicine. Theory and Practice. *Bull. Wld Hlth Org.*, *53*, 1, 55–65, 1976.

29. WHITTMORE A.D., WILLIAMS J.E.: Microsystem for Collecting and Shipping Diagnostic Sera. *Appl. Microbiol.*, *24*, 4, 671–672, 1972.

30. WLD HLTH ORG. MEMORANDUM: The Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA). *Bull. Wld Hlth Org.*, *54*, 2, 129–139, 1976.

Partea a-VI-a

PROTOZOOLOGIE MEDICALĂ

LI. GENERALITĂŢI

Protozoologia medicală se ocupă cu studiul protozoarelor parazite ale omului (protos = întîiul; zoon = animal; logos = descriere) şi a îmbolnăvirilor ce le provoacă.

Definiţie. Protozoarele sînt animale unicelulare, ce trăiesc în medii diferite, ca fiinţe libere sau parazite şi prezintă în ciclul lor evolutiv, la majoritatea dintre ele, două forme: *forma vegetativă*, la care toate funcţiile vitale se desfăşoară activ şi, *forma chistică (chistul)*, prevăzută cu o membrană rezistentă şi cu rezerve nutritive, care duce o viaţă latentă, cu procese metabolice reduse la minimum. Închistarea, la protozoarele libere, se produce în condiţii nefavorabile de mediu, în timp ce, la cele parazite, închistarea se produce şi în condiţii normale de viaţă, chisturile fiind, pentru unele specii, şi un mijloc de răspîndire la alte gazde.

Morfologie. Celula, care reprezintă corpul unui protozoar, este alcătuită ca orice celulă, din citoplasmă şi nucleu, avînd şi diverse organite pentru digestie, excreţie, locomoţie, care sînt părţi din celulă, diferenţiate pentru îndeplinirea acestor funcţiuni. La exterior, unele protozoare, au o membrană de înveliş sau o întărire a citoplasmei, altele nu au, caz în care citoplasma însăşi are un strat extern — ectoplasma — care delimitează citoplasma din interior — endoplasma.

Fiziologie. Protozoarele, deşi alcătuite dintr-o singură celulă, sînt organisme autonome, întregi, ce posedă toate funcţiile principale: hrănire, respiraţie, circulaţie, excreţie, mişcare, înmulţire.

Hrănirea, la unele protozoare se face prin înglobare, fie prin toată suprafaţa corpului, ca la *Rhizopode*, fie printr-un orificiu (citostom), ca la *Ciliate* şi unele *Flagelate*, la altele, prin osmoză, ca la unele *Flagelate* şi la *Sporozoare*.

Respiraţia se face prin difuziune, prin toată suprafaţa corpului.

Circulaţia, la unele protozoare, se face prin curenţi citoplasmatici (cicloză), fenomen foarte evident la *Ciliate* şi frecvent la unele *Rhizopode*.

Excreţia se face prin difuziune, prin toată suprafaţa corpului, sau prin vacuole pulsatile, organite ce servesc şi la reglarea respiratorie şi a presiunii interne a gazelor, ca la *Rhizopodele* libere şi la *Ciliate*.

Mişcarea se realizează, la unele *Rhizopode*, prin prelungirile protoplasmatice pe care le emit (pseudopode), la alte protozoare, prin flageli sau prin flageli şi membrană ondulantă, ca la *Flagelate* şi prin cili, ca la *Ciliate*.

Înmulţirea se face asexuat sau sexuat. *Înmulţirea asexuată* poate fi simplă, binară, întîlnită mai ales la formele vegetative, sau, multiplă, cum ar fi *schizogonia*, care constă dintr-o fragmentare a nucleului urmată de segmentarea citoplasmei, după care, rezultă un număr de indivizi tineri denumiți *merozoiți*. *Înmulțirea sexuată*, poate fi *izogamă*, cînd se face un schimb de cromatină între doi indivizi nediferențiați sexual și care se unesc temporar, (fenomenul de conjugare, întîlnit la *Ciliate*), după care urmează un mare număr de diviziuni directe a celor doi conjuganți, după separarea lor, și, *anizogamă*, cînd înmulțirea are loc între indivizi diferențiați sexual *(gameți)*, din care rezultă un ou *(zigot)*. Uneori, din ouă, prin înmulțire directă multiplă, se produc *spori*; o astfel de înmulțire se numește *sporogonie* și se întîlnește la *Plasmodii (Sporozoare)*.

Clasificare. Protozoarele care interesează medicina sînt cuprinse în 4 clase: *Flagellata (Mastigophora)*, *Rhizopoda (Sarcodina)*, *Sporozoa*, *Ciliata (Ciliophora)*.

LII. CLASA FLAGELLATA

Clasa *Flagellata (Mastigophora)* cuprinde protozoare cu un contur relativ stabil, datorită unei întăriri a stratului extern al protoplasmei, formaţie denumită periplast, cu unul sau doi nuclei vegetativi, cu unul sau mai mulţi flageli, ce servesc animalului la mişcare şi uneori la prinderea hranei. Fiecare flagel porneşte dintr-un organit numit blefaroplast, iar la ieşirea din corpul protozoarului, flagelul mai are o mică formaţie, denumită corpuscul bazal care împreună cu blefaroplastul constituie kinetoplastul sau kinetonucleul şi care reprezintă nucleul de mişcare şi de reproducere (fig. 307). La unele flagelate, unul din flageli, împreună cu o porţiune din periplast, formează o membrană ondulantă, cu rol în mişcare *(Trichomonas)*; la alte flagelate există un mic orificiu pe unde intră hrana, denumit citostom *(Trichomonas, Chilomastix)*; la o altă grupă de flagelate, există o prelungire rigidă — axostilul — ce porneşte din grupul de blefaroplaşti spre posterior *(Trichomonas)*. Unele dintre flagelate formează şi chisturi *(Chilomastix, Giardia)*.

Flagelatele se înmulţesc prin diviziune binară longitudinală. Ele cuprind două ordine: PROTOMONADIDE şi DIPLOMONADIDE.

ORDINUL PROTOMONADIDE

Cuprinde flagelate cu un singur nucleu vegetativ şi 1—6 flageli. În acest ordin se includ trei familii care interesează medicina: **Trypanosomidae, Chilomastigidae** şi **Trichomonadidae.**

FAMILIA TRYPANOSOMIDAE

Include flagelate cu corpul alungit, asimetric, cu un singur flagel, care, poate forma şi membrană ondulantă.

Trypanosomidele care interesează medicina sînt digenetice, evoluţia lor avînd loc ciclic, în două gazde: om şi unele vertebrate, parazitînd sîngele sau diferite ţesute, şi unele arthropode, parazitînd intestinul acestora. Ele pot îmbrăca 4 forme după cum se dezvoltă la gazda definitivă, intermediară sau pe medii de cultură.

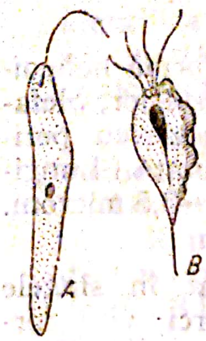


Fig. 307 : Tipuri de Flagelate :

(A) *Leptomonas* ; (B) *Trichomonas* (scheme).

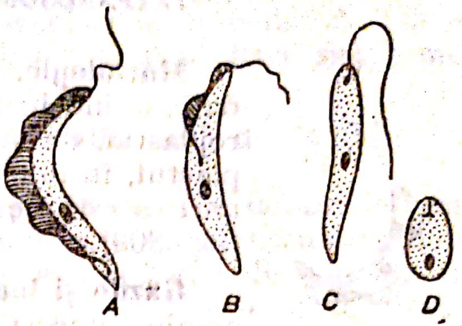


Fig. 308 : Forme de Trypanosomidae : (A) *Trypanosoma* ; (B) *Crithidia* ; (C) *Leptomonas* ; (D) *Leishmania* (scheme).

Forma *Trypanosoma* (cea mai evoluată), fusiformă, alungită, cu nucleu central, cu kinetoplast posterior nucleului și cu flagel, care, după ce formează o membrană ondulantă helicoidală de-a lungul corpului, devine liber la extremitatea anterioară (fig. 308). Această formă s-a adaptat la gazda definitivă — om și unele vertebrate — parazitînd sîngele. Atunci cînd trece la gazda intermediară (arthropod), parazitează intestinul acesteia și se transformă prin involuție în forma *Crithidia*.

Forma *Crithidia* este asemănătoare cu *Trypanosoma*, numai că kinetoplastul este așezat în dreptul sau înaintea nucleului, datorită cărui fapt, membrana ondulantă este mai scurtă (fig. 308).

Forma *Leptomonas* este alungită, subțire, cu nucleu central, cu kinetoplast și flagel anterior, fără membrană ondulantă. Această formă poate reprezenta o etapă în ciclul de evoluție a unui trypanosomid adaptat parazitismului cavitar (fig. 308).

Forma *Leishmania*, este ovalară, scurtă, cu nucleul posterior kinetoplastului, iar din flagel rămîne numai rhizoplastul împreună cu kinetoplastul (fig. 308).

GENUL TRYPANOSOMA

Cuprinde flagelate sanguine prevăzute cu membrană ondulantă. Ele evoluează în sîngele unui vertebrat (gazda definitivă) și în tubul digestiv al unei insecte hematofage (gazda intermediară), fiind deci digenetice. Speciile de trypanosome care interesează medicina umană sînt următoarele :

Trypanosoma gambiense,
Trypanosoma rhodesiense,
Trypanosoma cruzi.

Trypanosoma gambiense și *T. rhodesiense* sînt agenții etiologici ai tripanosomiazei africane (boala somnului), iar *T. cruzi* este agentul cauzal al tripanosomiazei americane (boala lui Chagas).

TRYPANOSOMA GAMBIENSE

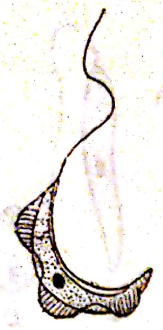


Fig. 309: Trypanosoma gambiense (schema).

Morfologie. Parazitul are corpul subţire, de formă helicoidală, avînd în interior un nucleu central, iar posterior, blefaroplastul, de unde pleacă un flagel care, formează cu periplastul, în lungul corpului, o membrană ondulantă. Lungimea sa este de 15—30 microni, iar grosimea 1,5—3,5 microni. (fig. 309).

Gazde şi localizare. Flagelatul este localizat în sîngele omului, uneori la animale domestice (capre, porci, vite cornute) sau sălbatice (păsări, şerpi) şi în intestinul unor arthropode din genul *Glossina*.

Evoluţia. Se petrece la om şi la gazda vectoare. Două specii sînt vectori, *Glossina palpalis* şi *Glossina tachinoides.* Aceste insecte iau tripanosomele odată cu înţeparea omului sau a animalului parazitat, tripanosome care, nu se vor dezvolta decît într-o mică măsură în corpul acestora (circa 15%). Durata evoluţiei în insecta vectoare este în funcţie de temperatură şi umiditate, aceasta fiind de 18—35 zile, perioadă în care se vor forma tripanosome metaciclice infecţioase, care, ajungînd în glandele salivare ale vectorului vor fi inoculate altor oameni sau animale, odată cu înţepătura în vederea hrănirii cu sînge. Se poate transmite şi mecanic, numai dacă înţeparea s-a făcut la 2—3 ore, după ce *Glossina* s-a hrănit pe o gazdă parazitată. În cazuri rare, infestarea se mai poate face pe cale sexuală sau congenitală.

Rol patogen. Provoacă tripanosomiaza gambiană sau boala somnului africană de vest, după o incubaţie de 2—3 săptămîni.

Simptome. În afara tumefacţiei de la locul înţepăturii, care poate şi lipsi, începe perioada de invazie cu accese febrile neregulate, cefalee şi o stare de agitaţie nervoasă. Boala îşi continuă evoluţia în trei perioade.

Prima perioadă corespunde activităţii parazitului în ganglionii limfatici şi în sînge şi se caracterizează prin menţinerea acceselor febrile şi a cefaleei, ea putînd dura cîţiva ani. Datorită intoxicaţiei generale care se menţine în acest interval de timp, se mai constată prurit — mai ales la oamenii de rasă albă — erupţii eritematoase pe trunchi şi membre, aşa-numitele „*tripanide*", hiperestezie cutanată sau profundă, poliadenită cervicală, edeme, leziuni oculare însoţite de conjunctivită, fotofobie sau alte manifestări.

A doua perioadă a bolii, ce poate dura mai multe luni, corespunde invadării lichidului cefalo-rahidian de către paraziţi cînd, pe lîngă accentuarea fenomenelor din prima perioadă, apar tulburări psihice şi nervoase. Bolnavii devin apatici şi au o tendinţă marcată spre somn în timpul zilei. De asemenea, datorită leziunilor sistemului nervos central, au tulburări de mers, de vorbire, oculare etc.

Perioada a treia de boală durează cîteva zile sau cel mult cîteva săptămîni şi se caracterizează prin accentuarea tulburărilor nervoase, torpoare profundă şi bolnavul sucombă în hipotermie.

Boala poate dura 2—3 ani, uneori şi mai mult.

Prognostic. Este favorabil în cazurile tratate şi destul de rezervat în cele netratate.

Diagnostic. Se face prin examenul microscopic al sîngelui în care se vor identifica tripanosomele. Se mai pot face inoculări la animale sensibile sau însămînțări pe medii de cultură. Diagnosticul numai pe baza simptomelor clinice este de probabilitate.

Tratament. Se administrează fie dimetansulfonatul de lomidină, fie medicamentul denumit Moranyl.

Dimetansulfonatul de lomidină se găsește în soluție, fiecare ml conținînd 40 mg lomidină bază. Se recomandă în injecții intramusculare, în doză de 1 ml pentru fiecare 10 kg greutate, zilnic sau la 2 zile. Se pot face serii de cîte 8 injecții la intervale de cîte o lună. La prima injecție se face doza pe jumătate. Soluția de lomidină trebuie ferită de acțiunea luminii. Se va face tratamentul înainte de masă, iar bolnavul, după injecție, va rămîne culcat cel puțin o oră, la adăpost de razele soarelui.

Medicamentul, ca o complicație tardivă, poate provoca o neuropatie a trigemenului. De asemenea, de multe ori, produce o creștere a ureei sanguine, precum și manifestări alergice care pot fi combătute prin antihistaminice.

Medicamentul poate fi folosit și în scop profilactic, administrîndu-se oamenilor din regiunile endemice, cîte o injecție cu 4—5 mg pe kg. corp, la fiecare 6 luni.

Moranyl-ul este un derivat complex de uree, cunoscut încă și sub denumirile de Bayer 205, Germanin sau Suramină sodică. Se folosește în soluție pregătită extemporaneu, 10%, în apă distilată. Se administrează în injecții intravenoase, prima injecție nedepășind la un adult 0,5 g, la celelalte se va introduce cîte 1—2 g. Injecțiile se fac săptămînal, doza totală pentru un ciclu fiind de 10—15 g.

Medicamentul poate produce o serie de fenomene secundare alergice (prurit, urticarie), nervoase (hiperestezii, fotofobie). De asemenea poate exercita și o acțiune hemolitică, iar în cursul tratamentului se poate instala și albuminurie, care denotă o perturbare a funcției renale, motiv pentru care, medicamentul este contraindicat în bolile renale, iar aplicarea lui va trebui urmărită prin analize frecvente ale urinii.

Moranyl-ul se poate folosi și în profilaxia tripanosomiazei, administrîndu-se în doză de 1 g pe săptămînă, timp de 2 săptămîni, conferind celui tratat, o apărare de circa 3 luni.

Epidemiologie. Sursa de infecție este atît omul parazitat, cît și diferite animale domestice (capra, porcul, vitele cornute etc.) sau sălbatice (păsări, șerpi etc.), infestate în mod natural și care sînt gazdele definitive ale acestui flagelat.

Evoluția parazitului, în afara gazdei definitive, se face la arthropode din genul *Glossina (G. palpalis, G. tachinoides)*, popular musca tze-tze, unde se formează tripanosomele metaciclice infestante, ce se inoculează odată cu înțepătura acestor gazde intermediare.

Profilaxie. Lupta se duce, pe de o parte, împotriva rezervorului uman de paraziți, prin depistare și tratare, iar pe de altă parte, împotriva insectelor vectoare (glosinele), prin utilizarea insecticidelor (DDT, dieldrin, compuși organo-fosforici), distrugerea locurilor de reproducere a acestor arthropode, prin curățirea pe anumite distanțe a arbuștilor și tufișurilor de pe malurile apelor, haine de protecție pentru oameni, precum și folosirea de insectifuge.

TRYPANOSOMA RHODESIENSE

Morfologie. Din punct de vedere morfologic se aseamănă cu Trypanosoma gambiense. Asemănător este și modul său de acțiune asupra organismului omului.

Evoluție. Gazdele definitive sînt, în primul rînd, omul, precum și unele animale domestice (porci, bovidee etc.) sau sălbatice (antilopa, girafa, zebra etc.), deseori infestate.

Gazdele intermediare sînt tot specii din genul *Glossina* (musca tze-tze), în primul rînd, *Glossina morsitans* și în mai mică măsură, *Glossina pallidipes*.

Rol patogen. Provoacă tripanosomiaza rhodesiană (boala somnului africană de est).

Simptome. Perioada de incubație este scurtă ; uneori, numai două săptămîni. Simptomele sînt, în general, asemănătoare cu cele de la tripanosomiaza gambiană, însă cu un caracter mai sever. Poliadenita cuprinde, în special, ganglionii epitrohleeni. Manifestările oculare sînt mai frecvente, iar edemele și emacierea, mai accentuate. Diferitele perioade de evoluție a bolii sînt mai scurte, dealtfel durata întreagă a bolii este mai scurtă.

Diagnostic. Se face prin identificarea paraziților în sînge, la fel ca și la tripanosomiaza gambiană.

Tratament. Același ca și la tripanosomiaza gambiană.

Prognostic. Este mult mai sever, bolnavii sucombînd în hipotermie.

Profilaxie. Aceeași ca și în parazitoza provocată de *Trypanosoma gambiense*, cu specificarea că rezervorul animal de infecție (animalele sălbatice parazitate), ocupă un loc mai important și deci se are în vedere mai mult combaterea vectorului, prin defrișarea tufișurilor, folosirea insecticidelor, protecția oamenilor cu insectifuge, haine de protecție și prin aplicarea chimioprofilaxiei.

TRYPANOSOMA CRUZI

Sinonimie. *Schyzotrypanum cruzi.*

Morfologie. Forma flagelată liberă din sînge are o lungime de 15—20 microni, iar forma leishmaniană, rotundă sau ovalară, măsoară 2—5 microni.

Gazde și localizare. La om, în celulele diferitelor organe, mai ales în inimă și creier, determinînd degenerescență parenchimatoasă și reacții inflamatorii accentuate.

Rol patogen. Provoacă tripanosomiaza americană sau boala Chagas.

Simptome. După o incubație de 1—2 săptămîni (rar 3—4 săptămîni), boala evoluează acut, întîlnindu-se mai frecvent la copiii sub 1 an, sau sub formă cronică, la copiii peste 1 an și la adulți.

Forma acută se manifestă cu febră ridicată, de obicei continuă, edem pronunțat al feței și conjunctivită, adesea unilaterală, uneori cu hipertrofia tiroidei, a ganglionilor limfatici (mai ales a celor axilari și inghinali). Anemie, tulburări cardiace și fenomene diferite de meningoencefalită se mai pot întîlni. Megaesofagul, rezultat al distrugerii unor plexuri nervoase, de către toxinele parazitului, este un semn precoce al bolii și pledează pentru dezvoltarea unei afecțiuni cardiace.

Forma cronică este cu simptome destul de variate, cele mai importante fiind legate de tulburările cardiace și nervoase. Poate dura 20 de ani, chiar și mai mult.

Prognostic. Este sever în formele meningeale ale copiilor. Mortalitatea este în jur de 40%. Leziunile cardiace înrăutățesc mult prognosticul.

Diagnostic. Se face prin depistarea paraziților în sîngele recoltat în perioadele febrile, sau în frotiuri de puncție splenică, sternală, precum și biopsie din ganglionii limfatici.

Epidemiologie. Rezervorul de paraziți este omul și numeroase animale domestice (cîine, pisică etc.) și sălbatice (un mic mamifer *Dasypus novemcinctus*, diferiți șobolani, o specie de marsupial din Uruguay — *Didelphys paraguayensis* — care este, de altfel, și cel mai important rezervor sălbatic), acestea fiind gazdele definitive.

Evoluția parazitului, în afara acestor gazde, se face la insecte vectoare — gazdele intermediare — care sînt diferite specii din familia *Reduvidae*. Astfel, un rol de principal vector îl are *Triatoma infestans*, *T. cruzi* și *Panstrongylus megistus*, iar în alte regiuni, *Rhodnius prolixus*, precum și unele specii de căpușe.

În aceste insecte sau căpușe, evoluția paraziților pînă la formele metaciclice infecțioase, se face în 10—20 zile, sau mai mult, în funcție de temperatură. Tripanosomele metaciclice infestante, sînt eliminate odată cu dejectele vectorului și pătrund, de obicei, în organismul gazdelor definitive (om sau, animale), prin soluțiile de continuitate ale pielii sau mucoaselor (gură, nas, ochi), prin intermediul degetelor murdărite cu dejectele arthropodelor infestate. Destul de rar, pot pătrunde paraziții și prin înțepătura gazdelor intermediare parazitate. De asemenea boala se mai poate transmite transplacentar, precum și prin sîngele transfuzat.

Tratament. Nu beneficiază de un tratament eficace. Medicamentele folosite în tripanosomiazele gambiană și rhodesiană, dau rezultate mai puțin încurajatoare.

Profilaxie. Nefiind încă un tratament eficace, lupta se duce împotriva agenților vectori, reduvidele, care este și ea destul de dificilă, prin pulverizări repetate cu gamexan și, mai ales, cu clordan, apoi, protecție mecanică față de vectori, fumigații și întreținerea igienică a locuințelor.

Răspîndire. Boala se întîlnește în America de Sud (Brazilia, Argentina, Venezuela, Peru etc.) și America Centrală (Panama, Costa Rica, Guatemala etc.).

GENUL LEISHMANIA

Cuprinde tripanosomide digenetice (cu două gazde) : omul și unele vertebrate, care sînt gazde intermediare, parazitul fiind în acestea sub forma *Leishmania*, iar arthropodul (agentul vector) este gazdă definitivă, parazitul fiind în această gazdă sub forma *Leptomonas* (formă mai evoluată decît *Leishmania)*.

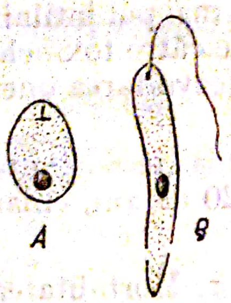


Fig. 310: *Leishmania donovani*: schema celor două forme: (A) *Leishmania*; (B) *Leptomonas*.

Din punct de vedere morfologic, parazitul, la om și mamifere (sub forma *Leishmania)*, are aspect de corpuscul ovalar, imobil, fără flagel, cu un nucleu central și un kinetoplast, iar din fostul flagel nu a mai rămas decît rhizoplastul (fig. 310). Este totdeauna parazit intracelular.

În agentul vector, (diferite specii de *Phlebotomus)*, sau în culturi, parazitul se găsește sub forma *Leptomonas*, alungit, subțire, cu nucleu central, cu kinetoplast și flagel anterior, fără membrană ondulantă (fig. 310).

Speciile de *Leishmania* ce parazitează omul sînt *Leishmania donovani (L. infantum)*, *L. tropica* și *L. brasiliensis*. Dintre acestea, *L. donovani (L. infantum)* provoacă leishmanioza viscerală (Kala-Azar), iar *L. tropica* și *L. brasiliensis* provoacă leishmanioza cutanată (Butonul de Orient).

Toate aceste specii sînt identice din punct de vedere morfologic, deosebindu-se numai prin caractere imunologice, de patogenitate, de transmisibilitate și de răspîndire geografică.

LEISHMANIA DONOVANI

Sinonimie. *Piroplasma donovani*, *Herpetomonas donovani*; unii autori îl consideră pe acest flagelat ca fiind identic cu *Leishmania infantum*.

Morfologie, gazde și localizare. Parazitul fiind digenetic, la gazda vertebrată (om, cîine), îmbracă forma de *Leishmania*, ovalar, de 2—6 microni lungime, cu protoplasmă vacuolară, cu un nucleu mare vegetativ și un kinetoplast (kinetonucleu) mai mic, de forma unei baghete (fig. 310) și parazitează de obicei celulele sistemului reticulo-endotelial și macrofagele.

La gazda nevertebrată *(Phlebotomus)*, parazitul se găsește sub forma de *Leptomonas*, de aspect alungit, acicular, de 15—20/2—4 microni mărime, cu extremitatea posterioară ușor atenuată și cea anterioară mai largă, din care iese un flagel de o lungime egală cu aceea a corpului. Nucleul se află spre mijlocul parazitului, iar anterior este kinetoplastul (fig. 310).

Transmisiune. Se face prin inocularea parazitului de către diverse specii de flebotomi: *Phlebotomus papatasi*, *Ph. longiductus*, *Ph. simici*, *Ph. major*, *Ph. perfiliewi*, de către căpușa *Rhipicephalus sanguineus* și de către păduchele cîinelui, *Linognatus setosus*.

Rezervorul de virus îl constituie omul, cîinele și în mod experimental popîndăul *(Citellus citellus)*, precum și hamsterul *(Cricetus cricetus)*.

Rol patogen. Parazitul provoacă omului leishmanioza viscerală, fie forma întîlnită în India sub denumirea de Kala-Azar, cauzată de *Leishmania donovani*, care afectează în special adulții, fie forma întîlnită în bazinul mediteranean, denumită leishmanioză splenică infantilă, care afectează în special copiii și cîinii și care are ca agent etiologic *Leishmania infantum*.

Leishmaniile, după inocularea lor de către agentul vector (flebotom etc.), se fixează mai ales în celulele sistemului reticulo-endotelial din splină, ficat și măduva oaselor; uneori și în pereții intestinului, în rinichi, testicole, plămîni etc. În celule, paraziții se înmulțesc activ, formînd adevărați noduli din macrofagele pline cu leishmanii și manșoane perivasculare de histiocite cu paraziți înglobați și multiplicați. Măduva oaselor reprezintă un focar activ de înmulțire a paraziților și de hiperplazie a macrofagelor.

Simptome. Incubația variază între 10 zile și cîteva luni. În leishmanioza viscerală infantilă, se semnalează uneori leziuni cutanate primare, la locul pătrunderii parazitului (Mirzoian, 1941), sub forma unui nodul cît un bob de linte, ce apare la exterior ca o papulă, de culoare roz-roșu închis, întîlnite mai ales la copiii în vîrstă de pînă la 1 an și jumătate. În această formă de boală se observă, cel mai adesea, două perioade:

— prima perioadă, cu o durată de 2—6 săptămîni, în care copilul are febră, tulburări digestive, este obosit, nu se mai joacă, are anorexie, tulburări care dispar în urma unui tratament simptomatic, revenind însă, mai accentuate, după 1—2 luni, cînd începe următoarea perioadă;

— a doua perioadă (perioada de stare), care se manifestă prin triada: febră, anemie cu leucopenie și splenomegalie marcată, simptome ce pot determina confundarea ei cu malaria, mai ales în regiunile unde această boală este endemică; se deosebește totuși de malarie, prin faptul că febra în leishmanioza viscerală este neregulată și neinfluențată de medicamente antimalarice.

Accesele febrile în leishmanioza viscerală pot fi mai multe în 24 ore, uneori precedate de frison și urmate de transpirație, iar pe măsură ce boala înaintează, ele se regularizează la două accese la 24 ore, sau devin de tipul intermitent cotidian. Alteori, curba febrilă apare ondulantă, ca la bruceloză.

Anemia în leishmanioza viscerală este și cu leucopenie, spre deosebire de malarie, unde leucopenia este moderată. Copiii bolnavi au fața albă ca varul (ca de păpușă de porțelan), iar formula leucocitară este inversată: polinucleare scăzute, monocite și limfocite crescute; eosinofilele scad, încă de la începutul bolii.

Splenomegalia se deosebește de cea din malarie, prin faptul că splina se hipertrofiază mai mult în partea polului inferior (splină în echer sau în unghi drept) și nu în totalitate ca la malarie. Ficatul este adesea și el hipertrofiat în totalitate, cu suprafața netedă și nedureros la palpare. Se mai pot întîlni tulburări digestive (diaree, dizenterie), uneori ulcerații intestinale și hemoragii intestinale, ulcerațiile întinzîndu-se anterior, spre gură, nas (noma). Alte tulburări sînt cele cutanate: în Kala-Azarul indian, pigmentarea bronzată a feței, pete eritematoase (leishmanide), ce apar mai mult la bărbați, completează tabloul clinic al bolii.

Hipertrofia ganglionară este deseori întîlnită. Ganglionii limfatici, în special cei axilari, inghinali și cervicali, se pot hipertrofia, conținînd numeroși paraziți înglobați în macrofage. Uneori poate apărea purpura sau sufuziuni sanguine. Se mai poate constata o scădere a trombocitelor, prelungirea timpului de sîngerare și uneori și a timpului de coagulare. Viteza de sedimentare a hematiilor este crescută.

Evoluție. Boala netratată se cronicizează ducînd la cașexie și exitus în timp de cîteva luni pînă la 2—3 ani.

Diagnostic. Se pune prin depistarea paraziţilor pe preparate microscopice din puncţia splinei, a măduvei osoase sau a ganglionilor. Se mai foloseşte reacţia de fixare a complementului şi cea de precipitare a globulinelor cu apă distilată.

Tratament. În leishmanioza viscerală, cel mai eficace tratament este cu medicamente pe bază de antimoniu. Cel mai uşor de manipulat dintre acestea este glucantim-ul (antimoniat de N-metilglucamină), un derivat de antimoniu pentavalent ce se găseşte în fiole a 0,30 g/ml. Se administrează în injecţii intramusculare profunde, în doză zilnică de 0,10 g/kg.corp, divizată în 2—3 injecţii, nedepăşindu-se 6 g pe zi, adică 20 ml, seria de tratament fiind de 10—12 zile. Se pot urma mai multe serii de tratament, cu pauze de cîte 10—15 zile.

Tratamentul antimonial poate provoca o stibiorezistenţă, limitată însă numai la medicamentul care a produs-o, ea dispărînd la înlocuirea acestui medicament cu un alt medicament antimonial.

Se mai pot utiliza şi alte medicamente, fără antimoniu, cum ar fi diamidinele, dintre care, mai folosite, sînt stilbamidina şi lomidina. Acest din urmă medicament, se administrează în aceleaşi doze ca la tripanosomiaza gambiană, ţinîndu-se seama de precauţiile ce au fost recomandate, atît pentru bolnav, cît şi în ceea ce priveşte păstrarea soluţiei de lomidină. De asemenea, trebuie de avut în vedere faptul că lomidina poate provoca, la aceşti bolnavi fenomene secundare ca hipotensiune, dispnee, urticarie, constricţie faringolaringeană, furnicături, scăderea trecătoare a acuităţii vizuale, hipersalivaţie, greaţă, anorexie, iar tardiv, tulburări pe traiectul trigemenului şi azotemie, pînă la 1,20 g$^0/_{00}$, fără nici un alt semn de atingere renală, şi care, revine la normal în 15—20 zile. Brumpt atrage atenţia asupra administrării lomidinei la bolnavii de leishmanioză viscerală, ca aceasta să se facă cu multă prudenţă, întrucît le-ar putea provoca diabet.

Profilaxie. Se face prin depistarea şi tratarea bolnavilor şi prin măsuri în vederea distrugerii flebotomilor.

Răspîndire. Boala se întîlneşte în India şi bazinul mediteranean. La noi în ţară este limitată într-o zonă îngustă din sudul ţării, sub formă de microfocare, care, sînt în legătură cu focarele cele mai importante din Bulgaria şi Jugoslavia şi care reprezintă, pînă acum, limita nordică din Sud-Estul European al focarelor de leishmanioză mediteraneană.

LEISHMANIA TROPICA

Morfologie. Este asemănătoare cu *Leishmania donovani*. Formele intra şi extracelulare se găsesc, mai ales, pe marginea leziunii. Numeroase elemente intracelulare se găsesc în leucocitele polinucleare şi mononucleare, precum şi în celulele epiteliale.

Gazda definitivă: omul.

Gazda intermediară: diferite specii de flebotomi.

Localizare. Parazitul se localizează în piele, unde se înmulţeşte considerabil în histiocite şi macrofage. Se formează la început un nodul mic care, creşte, se ramoleşte, se ulcerează şi apoi se complică cu infecţii microbiene secundare. Ulcerul pe care îl formează este acoperit de o crustă, iar pe fundul lui se găsește puroi. Parazitul dispare din zonele supurate, retrăgîndu-se în zonele periferice și în profunzime, sub fundul ulcerației și lateral, în pereții ei infiltrați și duri. Ulcerul poate fi unic sau multiplu.

Parazitul este transmis omului prin flebotomi, care sug din zonele ulcerate de la un om bolnav. În tubul digestiv al flebotomilor, leishmaniile se transformă în forme *Leptomonas*, care sînt apoi introduse în pielea unui individ sănătos.

Forme clinice. Sînt descrise două forme clinice : o formă ,,uscată'' (așa-zisa formă ,,de oraș''), cu incubație lungă și dezvoltare lentă, caracterizată prin noduli mobili pe planurile profunde, nedureroși, care se ulcerează după 3—6 luni, cu secreție redusă, iar în pereții ulcerului numeroase leishmanii, și, forma ,,umedă'' (așa-zisa formă de tip ,,rural''), cu ulcerații care se formează rapid, după o incubație scurtă și care au o formă neregulată, datorită confluării mai multor ulcerații învecinate, formă care, uneori, poate fi însoțită și de limfangită.

Proprietățile antigenice ale leishmaniilor celor două tipuri sînt deosebite. Ulcerul de tip ,,urban'', dă imunitate numai pentru acest tip, pe cînd cel de tip ,,rural'', dă imunitate pentru ambele tipuri, motiv pentru care s-au dat chiar nume deosebite celor două tipuri : varietatea ,,minor'', pentru forma uscată și varietatea ,,major'' pentru cea umedă.

Diagnostic. Se examinează frotiuri, executate din produsul recoltat de la periferia leziunii ; frotiurile se colorează prin metoda Giemsa. În interiorul leucocitelor, se află numeroase forme leishmaniene caracteristice, ovalare sau ușor arcuite. Prezența kinetoplastului alături de nucleu, ne permite, diagnosticul diferențial.

Tratament. Boala vindecîndu-se spontan, tratamentul nu este necesar. Totuși, pentru grăbirea vindecării, se pot face cauterizări, cu agenți chimici (nitrat de argint, permanganat de potasiu), sau cu agenți fizici (căldură locală sub formă de jet de vapori fierbinți). Local se poate introduce, prin infiltrarea pereților ulcerului sulfat de berberină 1%, sau musonat de atebrină, în soluție de 0,10 g în 1—2 ml apă distilată, sau clorhidrat de emetină 0,01—0,02 g, pînă la 0,10 g.

Se poate face totuși și un tratament parenteral, cu fuadin (antimoniu trivalent), sau cu glucantim (antimoniu pentavalent), ambele administrate în injecții intramusculare.

Fuadinul, se găsește în soluție și conține 13,5% antimoniu. Doza pentru copil, pe injecție, este de 1ml la 10 kg greutate corporală. Dacă se fac 10 injecții, cantitatea totală, revine la un număr de mililitri egal cu numărul de kilograme greutate corporală a copilului. Deoarece primele injecții trebuie să cuprindă o doză mai mică, pentru încercarea toleranței, pentru primele 3 zile doza va fi mai redusă, împlinindu-se doza totală prin adăugare, sub formă de injecții suplimentare, a diferenței pînă la doza totală. Primele 3 injecții se fac zilnic, apoi cîte o injecție la 2—3 zile, în funcție de gradul de toleranță și mersul clinic al bolii.

Pentru adulți, fuadinul se administrează astfel : prima zi 3,5 ml, ziua a 2-a pînă la a 5-a, cîte 5 ml zilnic, apoi la 2 zile cîte 5 ml. Numărul total de mililitri fuadin, nu trebuie să depășească numărul de kilograme greutate corporală a bolnavului.

În caz de complicații microbiene, se vor administra antibiotice.

Profilaxie. Se face prin aplicarea de măsuri împotriva agenților vectori și evitarea înțepăturilor acestora, precum și măsuri față de rezervorul de paraziți, tratînd bolnavii. Concomitent se vor lua măsuri împotriva rozătoarelor de cîmp — care posedă și întrețin boala — și a cîinilor — care pot fi și ei purtători de ulcere leishmaniene. Leziunile omului se vor acoperi cu pansamente, pentru prevenirea posibilității infectării insectelor vectoare.

Ulcerul de Orient se vindecă spontan și lasă bolnavilor imunitate. De altfel, locuitorii din Orientul mijlociu, au obiceiul de a-și provoca singuri ulcerații, în regiuni ale corpului ascunse de îmbrăcăminte, pentru a se vaccina, punîndu-se în acest mod la adăpost de formarea de ulcere de Orient, pe regiuni descoperite, unde lasă cicatrici inestetice.

Răspîndire. *Leishmania tropica* nu a fost semnalată, pînă în prezent, în țara noastră. Se semnalează, în regiunile sudice subtropicale ale U.R.S.S., în Afganistan, Iran, India, Israel, Iordania. Lipsește în regiunile continentului american.

LEISHMANIA BRASILIENSIS

Morfologic. Este asemănătoare cu celelalte două specii de *Leishmania.*

Gazda definitivă. Omul și rozătoarele sălbatice.

Gazda intermediară. Este reprezentată de *Phlebotomus perniciosus.*

Localizare. Tegumentele și mucoasele nazală, bucală și faringeană, ca parazit intracelular, în leucocite și celule epiteliale.

Rol patogen. Provoacă leishmanioza forestieră braziliană.

Diagnostic. Se face prin decelarea parazitului în leucocite și celule epiteliale.

Tratament. Se aplică același tratament ca în leishmanioza viscerală.

Profilaxie. Se face prin măsuri contra insectei vectoare și a rozătoarelor sălbatice, precum și prin tratarea oamenilor bolnavi, care sînt rezervorul de paraziți.

Răspîndire. Această parazitoză este răspîndită în Brazilia, Columbia, Venezuela și Peru.

FAMILIA CHILOMASTIGIDAE

Cuprinde protomonadide monozoice a căror forme vegetative sînt prevăzute cu 4 flageli, din care unul se află spre posterior, fiind situat în citostom, ceilalți fiind anteriori. Blefaroplaștii sînt așezați aproape de membrana nucleară, fără corpi parabazali. Nu are axostil. Marginile citostomului prezintă fibrile siderofile. Formele chistice sînt ovoide sau piriforme, și conțin un singur individ.

GENUL CHILOMASTIX

Parazit cu corpul piriform, ce are trei flageli anteriori și un citostom cu marginile cromofile, traversat de un flagel. Nu are axostil. Formează chisturi piriforme.

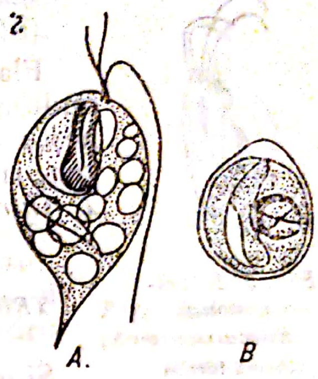


Fig. 311 : Chilomastix mesnili :
(A) forma vegetativă ; (B) chistul (schemă după Kofoid și Swezy, în Brumpt, 1949).

CHILOMASTIX MESNILI

Morfologie. Forma vegetativă este piriformă, avînd o lungime de 14 microni și o grosime de 5—6 microni. Are 3 flageli anteriori și un nucleu plasat cu totul anterior, lipit de blefaroplast. Posedă un citostom adînc ce are o buză mai groasă decît cealaltă (fig. 311).

Chisturile sînt piriforme, de 7,5—8,5 microni și refringente.

Gazde și localizare. Se găsește la om și maimuță, în colon, unde se hrănește cu bacterii și resturi alimentare diferite. Se confundă adesea cu *Trichomonas intestinalis.*

Evoluție. Se multiplică prin diviziune longitudinală, iar la un moment dat se închistează.

Rol patogen. De obicei se îmbolnăvesc indivizii anaclorhidrici, pentru că în atare situație, flagelatului îi este favorizată multiplicarea. Sînt însă mulți purtători sănătoși. În număr mare poate provoca colită, cu scaune diareice, colici și sensibilitate a întregului cadru colic.

Diagnostic. Depistarea parazitului se face pe preparate proaspete (examen direct), sau pe frotiuri colorate cu hematoxylină. Parazitul poate fi cultivat pe medii cu ser sanguin uman o parte și soluție Locke, ușor dextrozată, patru părți.

Tratament. Se face cu metronidazol, în dozele folosite în tratamentul giardiozei.

Profilaxie. Se recomandă igiena mîinilor și spălarea alimentelor înainte de consumare (fructe, zarzavaturi etc.).

Răspîndire. Se întîlnește pe întreg globul, avînd o incidență în jur de 3%.

FAMILIA TRICHOMONADIDAE

Cuprinde flagelate cu 3—5 flageli liberi și cu o membrană ondulantă. Un singur gen interesează medicina : *Trichomonas.*

GENUL TRICHOMONAS

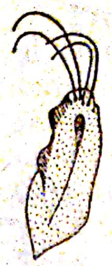


Fig. 312. Trichomonas buccalis: schema formei vegetative.

Flagelat protomonadid, cu 4—5 flageli, cu o membrană ondulantă și cu o prelungire rigidă — axostilul — care pornește din grupul de blefaroplaști spre posterior. Din acest gen, trei specii sînt parazite la om: *Trichomonas buccalis*, *T. intestinalis* și *T. vaginalis*.

TRICHOMONAS BUCCALIS

Sinonimie. *Trichomonas elongata*, *T. tenax*.

Morfologie. Forma vegetativă este ovală sau piriformă, avînd o lungime de 8—17 microni și o grosime de 4—8 microni, are un nucleu voluminos, ce conține un nucleol, fiind situat anterior. Din kinetonuclei pornesc de obicei 4 flageli liberi anteriori, cu extremitățile în cîrlig, iar un al 5-lea flagel, întorcîndu-se spre posterior, formează cu periplastul o membrană ondulantă scurtă. Citostomul, așezat anterior, este greu de văzut, (fig. 312). Nu are chisturi. După Prowazek și Wenyon, această specie ar fi identică cu *Trichomonas intestinalis*.

Gazde și localizare. Se întîlnește la om în cariile dentare, în puroiul abceselor dentare și în criptele amigdaliene. Uneori, a fost găsit în pulmoni și în faringe. Transmisiunea se face direct, prin picăturile de salivă, sărut, sau indirect, prin tacîmuri și pahare contaminate, precum și prin instrumentele stomatologilor, folosite fără a mai fi sterilizate.

Rol patogen. Se pare că acest flagelat nu are un rol patogen direct; poate însă vehicula bacterii, în profunzimea țesuturilor, favorizînd și întreținînd astfel, stomatite microbiene.

Diagnostic. Se face depistînd parazitul pe preparate directe, sau pe frotiuri colorate, executate din puroiul cariilor dentare, exudat amigdalian etc. Se poate cultiva pe mediul Simici (tuburi înclinate cu mediul Löeffler, acoperite cu cîte 2 ml soluție Ringer).

Tratament și profilaxie. Se face prin asanarea și igiena cavității bucale.

Răspîndire. Pe întreg globul. La noi în țară se întîlnește la circa 20% din populație.

TRICHOMONAS INTESTINALIS

Sinonimie. *Trichomonas pulmonalis*, *Monocercomonas hominis* etc.

Morfologie. Forma vegetativă, piriformă, cu o lungime de 10—15 microni și o grosime de 7—10 microni, are un nucleu mare, ovalar, cu nucleol și granule mari de cromatină. Din kinetonuclei pleacă 3—5 (mai frecvent 4) flageli liberi și un altul recurent, care, împreună cu periplastul, formează o membrană ondulantă, cu multe pliuri, devenind apoi, flagel liber la extremitatea posterioară. Pe partea opusă membranei ondulante, ventral, se află un mic citostom, uneori greu de observat. Axostilul este posterior, formînd un fel de codiță. Citoplasma este granulară, cu numeroase vacuole, în care se pot observa bacterii înglobate (fig. 313). Nu are chisturi.

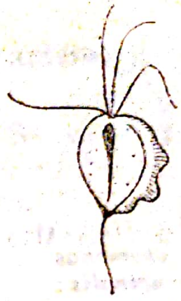


Fig. 313: Trichomonas intestinalis: schema formei vegetative.

Gazde și localizare. Trăiește la om, în mod obișnuit în cecum. Cînd sînt exemplare numeroase, paraziții pot fi întîlniți în tot lungul colonului.

Rol patogen. De obicei este nepatogen. În număr mare poate provoca enterocolita trichomoniazică, care se manifestă ca o colită cronică, cu scaune diareice, cu mucus și uneori cu sînge, colici și sensibilitate a întregului cadru colic.

Transmisiune. Se face pe cale bucală, ingerîndu-se din mediul extern formele vegetative, care sînt destul de rezistente și care se pot găsi în apa poluată cu dejecții, pe unele alimente, pe mîinile murdare a persoanelor parazitate. De asemenea, muștele au un rol în transmitere, ele putînd vehicula parazitul din materiile fecale pe alimente.

Diagnostic. Se face prin examen coproparazitologic; parazitul nu apare însă decît în cazul în care fecalele sînt diareice.

Tratament. Se pot obține rezultate foarte bune administrîndu-se metronidazol în dozele folosite în tratamentul giardiozei.

Profilaxie. Se face prin respectarea regulilor de igienă individuală și igiena alimentației, în sensul de a nu se consuma fructe sau zarzavaturi crude nespălate, sau a se bea apă poluată. De asemenea, dezmuștizarea, construcția de closete împiedică transmiterea acestui parazit.

Răspîndire. Se întîlnește mult mai rar decît *Trichomonas buccalis* și *T. vaginalis*.

TRICHOMONAS VAGINALIS

Sinonimie. Este identică cu aceea de la *T. intestinalis* cu care a fost confundat multă vreme.

Morfologie. Forma vegetativă este piriformă, ovalară sau chiar rotundă, de 10—30 microni și are un nucleu ovalar, situat anterior, prevăzut și cu un nucleol. Între nucleu și marginea anterioară a parazitului, se află un grup de kinetoplaști, din care pornesc 3—5 flageli, liberi care ies uneori dintr-o tijă comună. Un alt flagel, recurent, formează împreună cu o porțiune din periplast, o membrană ondulantă scurtă și puțin plisată. Axostilul, aproape totdeauna vizibil, pleacă de la partea posterioară a flagelatului. Un citostom mic, poate fi observat la unele exemplare. Citoplasma este vacuolară, observîndu-se frecvent bacterii ingerate (fig. 314). Chisturi nu are.

Gazde și localizare. Se întîlnește la om, localizat în vagin și mai rar în uretră (atît în uretra femeii, cît și a bărbatului).

Transmisiune. Se face, cel mai adesea, prin contact sexual. Totuși, infestarea fetițelor și a fecioarelor, dovedește și alte moduri de transmitere prin rufe murdare, prin apa din piscine, prin muște etc.

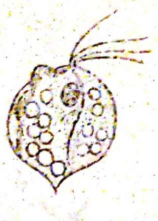


Fig. 314 : *Trichomonas vaginalis* : schema formei vegetative.

Rol patogen. Parazitul, în unele cazuri, este bine tolerat și nu provoacă nici o tulburare; în alte cazuri însă, provoacă trichomoniaza genito-urinară, mai ales la femei, bărbații fiind de obicei purtători sănătoși. Totuși s-au descris, la bărbați, cazuri de balanite și uretrite cu *Trichomonas*, iar parazitul a fost găsit de multe ori și în spermă. Este o boală veneriană, întîlnită mai ales în mediul urban, însă, faptul că se întîlnește uneori și la fetițe sau fecioare, nu poate fi considerată numai ca o afecțiune veneriană.

Principala formă de boală este vaginita (colpita), iar simptomul principal este leucoreea. Afecțiunea este de lungă durată, cu perioade acute sau subacute, separate de perioade de remisie.

Simptome. În faza acută, leucoreea este foarte abundentă și fetidă, cu senzație de arsură a vulvei și vaginului, uneori prurit dureros, cu fenomene de vaginism și dispareunie, precum și leziuni de grataj. Infestarea se poate întinde la glandele lui Skene și uretră, în care caz poate provoca senzație de arsură la micțiune. Mucoasa vaginală este acoperită de puncte roșii, echimotice, predominînd în fundul de sac posterior. Labrele pot fi edemațiate. Uneori, se asociază vaginitei și cervicita.

În faza subacută, scurgerea este abundentă, crescînd în perioada premenstruală și chiar și mai mult după menstruație, obligînd femeia să poarte tampoane. Secreția este sero-purulentă, bine legată, negleroasă, gălbuie sau cenușie și pătează rufăria. Scurgerea este spumoasă, aerată, cu bule fine gazoase, de o fetiditate acră. Pruritul provoacă iritabilitate, iar local dispareunie.

În faza cronică sînt simptome puține, menținîndu-se o scurgere purulentă, necaracteristică.

Agresivitatea parazitului este în funcție de prezența glicogenului în epiteliul vaginal; cînd acesta este prezent, flagelatul se hrănește prin osmoză și este neagresiv; în lipsa glicogenului, cînd mediul devine alcalin, parazitul se comportă ca hematofag, și chiar histiofag, uneori fiind și spermatofag.

Diagnostic. Se depistează paraziții pe preparate microscopice directe executate din secreția vaginală, prelevată, de preferință, din fundul de sac posterior al vaginului, din secreția uretrală, sau din sedimentul urinei din prima micțiune. Pe astfel de preparate paraziții pot fi observați vii. Se mai pot depista și pe frotiuri din secreții, colorate prin metoda May-Grünwald Giemsa sau Gram-Nicolle. Paraziții se pot cultiva pe mediul Simici (tuburi înclinate cu mediul Löeffler, acoperite cu cîte 2 ml soluție Ringer).

Tratament. Se va administra metronidazol, a cărui formulă chimică este (hidroxy-2-ethyl)-1 methyl-2-nitro-5 imidazol și care se prezintă sub formă de comprimate orale a 0,250 g și comprimate vaginale a 0,500 g. La femeile cu trichomoniază se va da 2,3 sau 4 comprimate a 0,250 g pe zi, în 2, 3 sau 4 prize, în timpul meselor timp de 10 zile, putîndu-se repeta cura după o pauză de 10 zile, iar concomitent cu tratamentul general se va recomanda ca în fiecare seară, să introducă cîte un comprimat de 0,500 g timp de 10—20 zile în vagin.

Trichomoniaza la bărbați se tratează tot cu metronidazol, per os, în aceleași doze, plus tratament local prin spălături cu diverse dezinfectante (nitrat de argint, oxicianură de mercur, rivanol).

La orice caz de trichomoniază a adultului, se va trata și partenerul și se va recomanda abstinență, pînă la vindecare.

Profilaxie. Se va menține o igienă corporală perfectă. Se va evita contactul sexual cu persoane parazitate. Se vor steriliza instrumentele ginecologice. Se va primeni des apa din piscine. Fetițele nu vor dormi în același pat cu persoane adulte parazitate. Nu se va împrumuta lenjerie de corp și de pat folosită.

Răspîndire. Se întîlnește pe tot globul. La noi în țară, în unele regiuni, incidența sa ajunge pînă la 60%.

ORDINUL DIPLOMONADIDE

Cuprinde flagelate cu o simetrie bilaterală, doi nuclei vegetativi și peste 6 flageli. O singură familie interesează medicina umană, familia *Octomitidae.*

FAMILIA OCTOMITIDAE

În această familie sînt cuprinse diplomonadide cu 8 flageli, din care numai genul *Giardia* (*Lamblia*) este parazit la om.

GENUL GIARDIA

Flagelat diplomonadid cu corp piriform, cu o depresiune în jumătatea anterioară a corpului, cu 8 flageli. O singură specie parazitează omul, *Giardia intestinalis.*

GIARDIA INTESTINALIS

Sinonimie. *Lamblia intestinalis*, *Cercomonas intestinalis.*

Morfologie. Forma vegetativă este piriformă, avînd dimensiunile de 15—20 microni lungime și 8—10 microni grosime. Are doi nuclei, situați anterior și 8 flageli (2 anteriori, 2 posteriori și cîte 2 pe părțile laterale) (fig. 315). Parazitul are o față dorsală convexă și o față ventrală, la care se observă, la partea anterioară, o depresiune reniformă, ca o ventuză, cu care flagelatul stă fixat de celulele epiteliului intestinal.

Chisturile sînt ovoide, de 10—13 microni lungime și 8—9 microni grosime, cu un înveliș subțire, cu dublu contur, cu 2—4 nuclei, situați către unul din polii chistului, cu granulații fine în citoplasmă și niște resturi de flageli, care se observă ca niște linii curbe sinuoase — numai cîteva — plecînd de la un pol spre celălalt (fig. 315).

Gazde și localizare. Parazitează omul — în special copiii — și este localizat în duoden și începutul jejunului, mai rar în coledoc și vezicula biliară.

Transmisiune. Se face pe cale bucală, ingerîndu-se chisturile, odată cu apa sau alimentele poluate. Muștele pot avea un rol în transmisiune, ca agenți vectori mecanici.

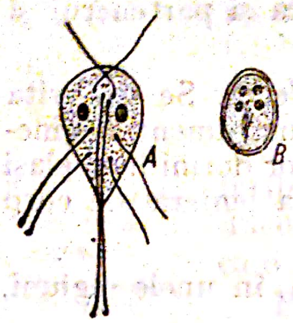


Fig. 315: Giardia intestinalis:
(A) forma vegetativă; (B) chistul (scheme după preparate microscopice).

Rol patogen. Parazitul provoacă giardioza (lambliaza), care apare ca o diaree cronică, evoluînd luni, sau chiar ani, rebelă la tratament. Scaunele sînt moi, neformate, mai rar lichide și se elimină fără colici. În formele intense, scaunele sînt de culoare verde și nu conțin sînge sau glere. Starea generală a bolnavului este nealterată și apetitul păstrat. Bolnavul are ușoară balonare și garguiment cecal, durere la palpare în regiunea epigastrică. Abdomenul poate fi flasc, cu aspect de cîrpă umedă, datorită stazei duodenale.

Simptome. Forma enterohepatică a bolii, întîlnită mai ales la copii, se manifestă cu astenie, cefalee, greață, tulburări de vedere, urticarie, uneori diaree, ușor subicter cu sensibilitate la palparea ficatului și a veziculei biliare. Forma cu localizare duodenală, mai frecventă la adulți, se remarcă prin astenie, arsuri epigastrice și uneori vărsături matinale.

Manifestările din giardioză nu constituie totuși un sindrom unitar. Ne putem gîndi la această boală, în cazul unei diarei cronice, caracterizată prin lipsa perioadelor de constipație, stare generală bună, apetit păstrat, absența glerelor și a sîngelui în scaune.

Diagnostic. Se face depistînd chisturile pe preparate microscopice directe executate din fecale sau din mucusul din acestea (formele vegetative se găsesc mai rar în fecale; se găsesc uneori în scaunele diareice sau după administrarea unui purgativ salin). Examenele negative nu infirmă prezența paraziților, întrucît există și perioade negative, cînd paraziții nu se închistează. În asemenea cazuri se vor mai repeta examenele coproparazitologice sau se va face tubaj duodenal, iar din lichidul extras se fac preparate directe sau frotiuri colorate prin metoda May-Grünwald Giemsa. Pe aceste preparate, executate din lichid duodenal, se vor putea depista formele vegetative ale flagelatului.

Tratament. Se face cu metronidazol, folosindu-se comprimatele orale a 0,250 g. Se administrează per os, la un adult, de 2 ori pe zi cîte un comprimat, în timpul meselor, timp de 5 zile, repetîndu-se la nevoie, cura, după 5—10 zile. Avîndu-se în vedere rezistența tot mai accentuată a parazitului la acest medicament, se poate mări doza pînă la 4 comprimate pe zi, la un adult, prelungind și cura, pînă la 10 zile. La copii, doza poate merge pînă la 0,03 g pe kg corp.

Profilaxie. Se face depistarea și tratarea bolnavilor, evitarea contactului direct cu bolnavii parazitați, măsuri de educație sanitară în legătură cu igiena generală și individuală; de asemenea este necesară dezmuștizarea, întrucît muștele pot transmite chisturile parazitului pe alimente. Tot în acest sens, trebuie luate măsuri, ca să se împiedice poluarea solului prin materii fecale neinactivate și contactul direct sau indirect cu solul poluat. Se va face control periodic, din punct de vedere parazitologic, muncitorilor din sectorul alimentar, mai ales a celor care manipulează produse care nu vor mai suferi o prelucrare termică (cofetari, brutari, mezelari etc.).

Răspîndire. Giardioza este răspîndită pe întreg globul. Se întîlnește și în țara noastră, într-o incidență de pînă la 20%, în unele regiuni.

LIII. CLASA RHIZOPODA

Rhizopodele sînt protozoare lipsite de membrană, cu citoplasma din două straturi distincte, ectoplasma și endoplasma și care emit prelungiri protoplasmatice, numite pseudopode, cu care se mișcă, prind și înglobează hrana (fig. 316). Formele vegetative ale acestora au 1—2 nuclei. Majoritatea rhizopodelor se pot închista. Un singur ordin interesează medicina, ordinul *Amoebieni*.

ORDINUL AMOEBIENI

Cuprinde Rhizopode transparente, de formă neregulată din cauza emiterii de pseudopode. Din acest ordin prezintă importanță pentru patologia umană numai familia *Amoebidae*.

FAMILIA AMOEBIDAE

Această familie include genuri care parazitează tubul digestiv al omului: *Entamoeba*, *Endolimax*, *Pseudolimax* și *Dientamoeba*, dintre care, o importanță deosebită are genul *Entamoeba*, specia *histolytica*, datorită patogenității sale.

GENUL ENTAMOEBA

Se caracterizează prin nucleul său care are un mic kariosom central sau excentric și o pătură de cromatină periferică. Interesează medicina, 3 specii: *Entamoeba histolytica*, *E. gingivalis* și *E. coli*.

ENTAMOEBA HISTOLYTICA

Sinonimie. *Entamoeba dysenteriae*, *E. tetragena*.

Morfologie. Forma vegetativă, cu dimensiuni cuprinse între 20—40 microni, are ectoplasma refringentă și net delimitată de endoplasmă. În endo-

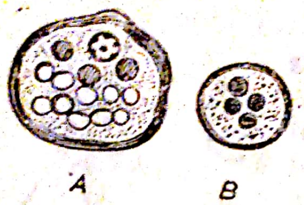


Fig. 316 : *Entamoeba histolytica* :

(A) forma vegetativă; (B) chistul (scheme).

plasmă se pot observa hematii bacterii, ingerate conținute în vacuole. Nucleul este mai puțin distinct ca la *Entamoeba coli* (specie înrudită, însă comensală) și are un kariosom central și mai multe granule de cromatină pe membrana nucleară (fig. 316). În fecale proaspete, forma vegetativă, la temperatura de +37°C, emite pseudopode active și are o mobilitate mare. Se prezintă sub două forme:

Forma minuta, de dimensiuni mai mici (20 microni), nu prea mobilă, nehematofagă, cu localizare în lumenul intestinal și care formează chisturi tetranucleate (cu 4 nuclei), ce se elimină odată cu fecalele.

Forma magna, de dimensiuni mai mari (30—40 microni), foarte mobilă, hematofagă, cu localizare în peretele intestinului, sau în abcesele din organe (abcese amoebiene) și care conține în endoplasma sa hematii sau resturi de hematii. Aceasta este forma patogenă, provine din forma minuta, are un histotropism pozitiv, fiind histotropă și hematofagă, nu se închistează și se poate transforma din nou în forma minuta.

Chistul este de formă ovalară, sau rotundă, cu diametrul de 7—15 microni, are o membrană fină, cu dublu contur, mai puțin evidentă ca la *Entamoeba coli*, iar în interior, chisturile tinere au 1—2 nuclei, cele mature 4 nuclei (chisturi mono, bi, sau tetranucleate) și corpusculi cromatoizi mai refringenți, sub forma de baghete rotunjite la extremități. Nucleii sînt mai greu vizibili ca la *Entamoeba coli* (fig. 316).

Viabilitatea chisturilor este de 5—6 zile pe sol, 2—3 săptămîni în fecale și 2—3 luni în apă.

Gazde și localizare. *Entamoeba histolytica* parazitează omul, fiind localizată în lumenul și în ulcerațiile pe care le determină în colon și în porțiunea inferioară a intestinului subțire, iar uneori și în porțiunea lui superioară (duoden) și în căile biliare. În unele cazuri, poate avea și localizare extraintestinală, în diferite organe: ficat, splină, pulmon, creier sau chiar piele.

Transmisiune. Se face prin ingerarea chisturilor, fie direct (mîini murdare, mai rar obiecte), fie indirect (apă de băut, apă de spălat, alimente spălate cu apă poluată etc.), sau aduse de animale: cîini, pisici, arthropode (mai ales muște).

Rol patogen. Parazitul provoacă amoebiaza (disenteria amoebiană), mai ales în regiunile tropicale și subtropicale. Cum între forma „*magna*", care este patogenă și forma „*minuta*", nepatogenă, există și forme de tranziție, a căror apariție este legată de condițiile biologice, întîlnite în organismul parazitat, înfățișarea clinică a acestei parazitoze, îmbracă forme diverse, corespunzînd la modul de comportare a majorității exemplarelor, ce aparțin unei anumite forme, mai mult sau mai puțin agresivă. Astfel în cazul în care predomină amoebe din forma „*magna*", formă histolitică și hematofagă, bolnavul va manifesta un sindrom dizenteric caracteristic, ca urmare a ulcerațiilor care se vor forma, mai ales în regiunea cecală, sau recto-sigmoidiană. Din contra, cînd majoritatea amoebelor reintră în forma „*minuta*", bolnavul va intra în faza de remisiune, mai mult sau mai puțin completă, în funcție de gradul de adaptare incolină a amoebelor patogene.

În general, amoebiaza intestinală se întîlnește sub două forme: acută (mai rar întîlnită) și cronică (mai frecventă).

Simptome. Amoebiaza acută, forma gastroenterică, este cu manifestări peritoneale și perforații intestinale, ca la febra tifoidă, cu sfîrșit letal; o altă formă, septicemică, este fără sindrom intestinal, moartea survenind prin hemoragie intestinală; în fine, în forma intestinală holeriformă, care este mai puțin gravă, predomină scaunele seroase lichide cenușii și hipotermia.

Amoebiaza cronică, se manifestă în unele cazuri cu diaree, 5—6 scaune pe zi, de culoare neagră, fetide și fără mucus; în alte cazuri, cu constipație, alternînd cu diaree și care se poate complica cu abces amoebian hepatic. Forme mai deosebite în amoebiaza cronică sînt formele enterocolitice: mucoasă, cu diaree, evacuare cu dureri, scaune cu mult mucus și ulceroasă, cu stare generală profund alterată, cu crize abdominale dureroase și tenesme, aceasta din urmă, fiind o formă gravă. Ulcerațiile se produc de obicei la nivelul intestinului gros și, mai rar, la nivelul intestinului subțire. Leziunile sînt cu orificiul de deschidere dinspre lumen, mic și cu fundul larg, (ca o pîlnie), de dimensiuni variabile, cu marginile decolate prin fața lor inferioară (leziuni în ,,buton de cămasă'').

Diagnostic. Formele vegetative se pot depista pe preparate microscopice, executate numai din fecale lichide (sînge, mucus sau puroi din aceste fecale), fie pe preparate microscopice directe, fie pe frotiuri colorate cu hematoxilină ferică. În cazul depistării numai a chisturilor tetranucleate, se va face xenodiagnostic, inoculîndu-se fecale cu chisturi, în rect la pisici tinere, depistîndu-se apoi formele vegetative, a doua zi după inoculare, în mucusul recoltat din rect, de la aceste animale.

Tratament. Medicamentul de elecție în tratamentul amoebiazei, pînă nu de mult, a fost emetina, un alcaloid extras din planta Ipeca. Se poate utiliza sub formă de clorhidrat de emetină în soluție 2%, în injecții intramusculare, in doză de 0,08—0,10 g/zi, în perioadele acute, pentru un adult, pînă la doza totală de 0,50—0,80 g. Acest medicament, trebuie administrat cu prudență, pentru că provoacă leziuni miocardice. Este contraindicat la cardiaci, renali, gravide, copii și bătrîni.

Un alt medicament este 2-dehidroemetina, o emetină produsă pe cale sintetică, care tinde să înlocuiască emetina de extracție și care are avantajul de a se elimina mult mai rapid, în special din inimă, permițînd prin aceasta folosirea ei chiar și în doze mai ridicate și serii de tratament mai lungi; astfel se poate administra 120 mg de 2-dehidroemetină pe zi, timp de 10 zile.

Ca medicament mai nou și mai bine tolerat, se folosește din ce în ce mai mult, metronidazolul, folosit și în tratamentul trichomoniazei și a giardiozei, care este un derivat nitroimidazolic. Se folosesc comprimatele orale de metronidazol a 0,250 g. Preparatul este eficient în doza de 35 mg/kg. corp și se dă în doză de 800 mg de 3 ori pe zi, după mese, cu multă apă, timp de 10 zile. Acest medicament este contraindicat la persoane cu discrazii sanguine, cu tulburări ale sistemului nervos central, cu afecțiuni hepatice grave și la gravide în primele 3 luni de sarcină. În cursul tratamentului se vor evita orice băuturi alcoolice.

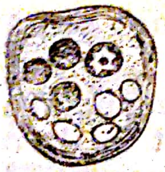


Fig. 317 : Entamoeba gingivalis : schema formei vegetative.

Profilaxie. Se face prin depistarea și tratarea bolnavilor (este necesară o mare atenție la perioadele negative, în care bolnavul nu elimină nici forme vegetative și nici chisturi), dezinfectarea fecalelor bolnavilor și purtătorilor, se va face controlul apei, se vor lua măsuri de dezmuștizare, se vor aplica măsuri de igienă; spălarea mîinilor, să nu se ingere decît alimente fierte și să se evite orice contact direct sau indirect cu purtătorii de amoebe.

Răspîndire. Amoebiaza este întîlnită mai ales în regiunile tropicale și subtropicale, semnalîndu-se încă cazuri și în alte regiuni : Grecia, Iugoslavia, Ungaria etc.

ENTAMOEBA GINGIVALIS

Sinonimie. *Entamoeba buccalis*

Morfologie. Forma vegetativă, cu dimensiuni cuprinse între 5—35 microni, are ectoplasma net distinctă de endoplasmă în care se observă granulații fine, vacuole și elemente fagocitate (nuclei ai elementelor albe din puroi, celule epiteliale din gură etc.). Nucleul distinct, ca și la *Entamoeba coli*, cu un kariosom central și mai multe granule de cromatină pe membrana nucleară (fig. 317). Această amoebă nu formează chisturi.

Gazde și localizare. Entamoeba gingivalis parazitează omul și este localizată în cavitatea bucală, în puroiul de la rădăcina dinților, în abcesele și cariile dentare. Parazitul se elimină prin salivă (numai formele vegetative).

Transmisiune. Se face direct prin picăturile de salivă, sărut.

Rol patogen. Rolul patogen al acestui parazit este insuficient clarificat. Faptul că fagocitează leucocite, hematii, celule diverse, sugerează posibilitatea acestei amoebe de a avea un rol adjuvant, în unele infecții dentare.

Diagnostic. Se face depistînd, pe frotiuri executate din produse patologice (puroi de abcese dentare, carii etc.), colorate prin metoda May-Grünwald Giemsa, formele vegetative ale parazitului. Se pot executa și preparate directe, cu ser fiziologic, în care caz, se vor observa forme vegetative vii. În cazul în care paraziții sînt puțini numeroși, se fac culturi pe medii ce conțin geloză-ser, sau soluții Ringer-ser.

Tratamentul și profilaxia se face prin asanarea și igiena cavității bucale.

Răspîndire. Această amoebă, este răspîndită pe întreg globul.

ENTAMOEBA COLI

Sinonimie. *Entamoeba hominis, Amoeba intestini vulgaris*

Morfologie. Forma vegetativă, de dimensiuni cuprinse între 20—40 microni, are ectoplasma puțin distinctă de endoplasmă care, este adesea vacuolară și conține microbi, mai rar chisturi de protozoare (chisturi de *Giardia* etc.) și nu conține niciodată hematii (nu este hematofagă). Nucleul, distinct, are un kariosom central și mai multe granule de cromatină pe membrana nucleară (fig. 318). Se mişcă încet şi emite pseudopode mai anevoie.

Chisturile sînt de formă sferică, cu diametrul de 10—30 microni, cu o membrană groasă, bine distinctă, cu protoplasma transparentă şi cu 8 nuclei (uneori 16 sau 32). În protoplasmă se mai observă corpusculi cromatoizi, de formă neregulată, cu extremităţile ascuţite (fig. 318). Chisturile tinere pot avea 1—2 nuclei şi o vacuolă de glicogen.

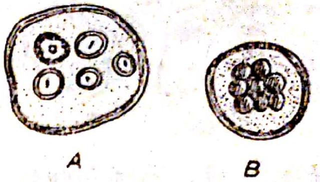


Fig. 318: *Entamoeba coli*: (A) forma vegetativă; (B) chistul (scheme).

Gazde şi localizare. Forma vegetativă a acestei amoebe este localizată la om, în prima porţiune a colonului, iar forma chistică în porţiunea inferioară a colonului.

Transmisiune. Se face prin ingerarea chisturilor, fie direct (mîini murdare, obiecte etc.), fie indirect (apă, alimente poluate, salată, fructe etc.), sau prin unele arthropode (muşte etc.).

Rol patogen. Această amoebă este nepatogenă. Ea duce o viaţă comensală.

Diagnostic. Se depistează pe preparate microscopice executate din fecale, în care se elimină, de obicei, numai chisturile. Se pot depista şi forme vegetative, în scaunele diareice, sau după administrare de purgativ.

Răspîndire. *Entamoeba coli* este un protozoar destul de răspîndit, fiind găsit frecvent şi la noi în ţară, în unele regiuni ajungînd la o incidenţă de peste 50%.

GENUL ENDOLIMAX

Cuprinde *Rhizopode* cu nucleul avînd un kariosom excentric, voluminos şi lipsit de cromatină periferică. Specia care interesează medicina umană este *Endolimax nana*.

ENDOLIMAX NANA

Sinonimie. *Entamoeba phagocytoides, Amoeba limax, Entamoeba nana.*

Morfologie. Forma vegetativă are un diametru de 6—12 microni şi este puţin mobilă. Chistul este sferic, sau de cele mai multe ori, ovoidal, de 7—9 microni diametru şi conţine 4 nuclei, caracteristici genului (fără cromatină periferică) (fig. 319).

Gazde şi localizare. *E. nana* este localizată la om, în colon.

Transmisiune. Se face prin ingerarea chisturilor, prin aceleaşi mijloace ca şi în cazul infestării cu *Entamoeba coli*.

Rol patogen. Această amoebă nu are nici un rol patogen.

Diagnostic. Se depistează pe preparate microscopice executate din fecale, în care se elimină de obicei chisturile şi în mai mică măsură formele vegetative.

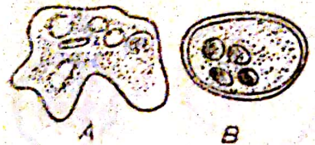


Fig. 319: Endolimax nana:
(A) forma vegetativă; (B) chistul (schemă parţială, după *Wenyon* şi *O'Connor*, în Brumpt 1949).

Răspîndire. Se pare că este un protozoar destul de răspîndit în toate ţările.

GENUL PSEUDOLIMAX

Genul *Pseudolimax*, denumit încă şi *Iodamoeba*, include *Rhizopode* ce au nucleul cu un kariosom central mare şi sferic, înconjurat de o pătură de granule acromatice. Specia care interesează medicina umană este *Pseudolimax bütschlii* (*Iodamoeba bütschlii*).

PSEUDOLIMAX BÜTSCHLII

Sinonimie. *Iodamoeba bütschlii*

Morfologie. Forma vegetativă, de dimensiuni cuprinse între 8—20 microni, are un nucleu uşor vizibil, care conţine un kariosom excentric sau paracentral, înconjurat de o serie de sferule acromatice. Chisturile sînt ovale, de 5—13 microni diametru şi conţin unul, sau mai rar doi nuclei, care au structura caracteristică a nucleului formelor vegetative. Formele prechistice şi chistice, conţin 1—2 vacuole mari, care se colorează cu soluţia Lugol, în brun-roşcat (fig. 320).

Gazde şi localizare. *Iodamoeba* parazitează omul, fiind localizată în colon. Se mai găseşte la porc, care se pare că este gazda normală a acestui protozoar, precum şi la unele maimuţe, tot în colon.

Rol patogen. Se pare că această amoebă este nepatogenă.

Diagnostic. Se face depistînd, în special chisturile, uneori şi formele vegetative, pe preparate microscopice directe, executate din fecale, cu adăugire de cîteva picături de Lugol forte.

Tratament. De obicei nu este necesar; dacă totuşi este nevoie, se va administra metronidazol, în dozele prescrise la amoebiază.

Profilaxie. Se face prin măsuri de igienă generală şi individuală, dezmuştizare etc.

Răspîndire. Este răspîndită pe tot globul. La noi în ţară, incidenţa sa nu trece de 5%.

GENUL DIENTAMOEBA

Cuprinde *Rhizopode* cu doi nuclei, fiecare avînd cîte un kariosom central, granulos şi lipsit de cromatină periferică. Specia care interesează medicina umană este *Dientamoeba fragilis*.

DIENTAMOEBA FRAGILIS

Morfologie. Forma vegetativă de 3,5—12 microni diametru, are ectoplasma clar distinctă de endoplasmă, cu doi nuclei veziculoşi fără cromatină

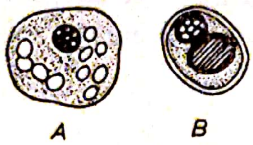


Fig. 320 : Pseudolimax bütschlii :
(A) forma vegetativă;
(B) chistul (scheme).

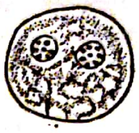


Fig. 321 : Dientamoeba fragilis :
forma vegetativă (schemă parțială după *W. Jepps* și *C. Dobell*, în Brumpt, 1949).

periferică, avînd în centru cîte un kariosom central, format din granule mari de cromatină (fig. 321). Este o amibă mobilă. Nu se cunosc, pînă în prezent, formele chistice ale acestei amibe.

Gazde și localizare. Se găsește la om și la unele maimuțe în colon.

Patogenitate. Pentru unii autori, această amoebă, ar putea să aibă un rol patogen.

Diagnostic. Se face depistînd formele vegetative, pe preparate microscopice directe executate din fecale. Amoebele tinere sînt adesea uninucleate.

Tratament. În cele mai multe cazuri nu este necesar. Dacă va trebui totuși, se va administra metronidazol, în aceleași doze ca la amoebiază.

Profilaxie. Se face prin măsuri de igienă generală și individuală.

Răspîndire. Este răspîndită pe tot globul. Se depistează adeseori și la noi în țară.

LIV. CLASA SPOROZOARE

Clasa *Sporozoare* cuprinde numai protozoare parazite, care în mod obișnuit nu au organite de locomoție (mobilitate redusă), se înmulțesc și prin spori, au o organizație internă foarte simplă și sînt paraziți intracelulari, măcar o parte din viața lor. Ceea ce caracterizează sporozoarele, este înmulțirea lor, care se face în două cicluri:

Ciclul schizogonic (asexuat), care constă în fragmentarea elementului primitiv, în corpi mici, ce parazitează noi celule, în organismul aceleiași gazde.

Ciclul sporogonic (sexuat), în care apar elemente mascule și femele, care fuzionîndu-se, dau naștere la ouă, din care vor ieși spori (sporozoiți).

Aceste cicluri, sînt la aceeași gazdă, cînd este vorba de specii intestinale — *coccidiile* — și în gazde diferite, cînd este vorba de specii sanguine — *hemosporidiile* —.

După tipul de înmulțire, această clasă se împarte în două subclase: *Telosporidii*, la care sporozoiții apar la finele ciclului sexuat și *Neosporidii*, la care sporozoiții apar la finele vieții vegetative.

Subclasa *Telosporidia* include două ordine ce cuprind paraziți la om: ordinul *Coccidia* și ordinul *Haemosporidia*.

Subclasa *Neosporidia* include tot două ordine ce cuprind paraziți la om: ordinul *Cnidosporidia* și ordinul *Sarcosporidia*.

ORDINUL HAEMOSPORIDIA

Cuprinde sporozoare cu gametociți egali, cu gameți masculi mai mici decît cei femeli și uneori numeroși, cu ou mobil (ookinet), care se mărește de volum după ce s-a format. Include două familii, din care familia *Plasmodidae* interesează în mod deosebit medicina.

FAMILIA PLASMODIDAE

Paraziții acestei familii trăiesc în hematiile omului sau a animalelor cu sînge cald sau rece, produc pigment negru (hemozoina), se reproduc prin schizogonie și sporogonie, iar toate stadiile lor de evoluție se găsesc în hematii. Din această familie interesează medicina genul *Plasmodium.*

GENUL PLASMODIUM

Cuprinde specii parazite ce trăiesc în hematiile omului, sau a animalelor cu sînge cald sau rece și produc pigment negru (hemozoina), ce conține o mare cantitate de fier și care provine din descompunerea hemoglobinei de către parazit. Prezența acestui pigment în formele mai avansate (schizonți, gametociți etc.), permite deosebirea plasmodiilor de alte sporozoare, sau artefacte.

Reproducerea plasmodiilor se face prin schizogonie și sporogonie. Schizogonia are loc în gazda vertebrată, iar sporogonia în gazda nevertebrată (în cazul plasmodiilor umane, diferite specii de *Anopheles*).

Genul *Plasmodium* cuprinde specii parazite la păsări și unele mamifere, printre care, plasmodiile de la maimuțe și om, interesează îndeosebi, întrucît provoacă acestora, malaria (paludismul).

Omul este parazitat de 4 specii de *Plasmodium* :

- *Plasmodium vivax,*
- *Plasmodium malariae,*
- *Plasmodium falciparum,*
- *Plasmodium ovale.*

Dintre aceste specii, primele trei, sînt mai importante, fiind și cele mai răspîndite.

EVOLUȚIA PARAZITULUI ÎN GENERAL ȘI CARACTERELE MORFOLOGICE

Parazitul evoluează în două cicluri : *ciclul schizogonic* (asexuat) și *ciclul sporogonic* (sexuat).

1) **Ciclul schizogonic.** Acest ciclu are două faze : *faza exoeritrocitară* și *faza eritrocitară.*

a) **Faza exoeritrocitară** se petrece în ficat, fapt dovedit abia în 1948, pentru om. Această fază începe cu pătrunderea *sporozoitului* în corpul omului, în urma inoculării lui de către țînțarul *Anopheles* femel. *Sporozoitul,* în maximum o oră ajunge la ficat, unde parazitează fie celula hepatică parenchimatoasă, fie celula Kupfer. În acest timp, transfuziile sau injecțiile cu sînge, de la bolnav la sănătos nu transmit boala. În celula hepatică, *sporozoitul* se rotunjește, crește, apoi își multiplică nucleul, transformîndu-se într-o masă protoplasmatică multinucleată (cu mii de nuclei) — *plasmodiu* — după care urmează individualizarea în jurul fiecărui nucleu, a unei mici bucățele de protoplasmă, luînd astfel naștere *merozoiți,* denumiți încă și *criptozoiți* : *macrocriptozoiți* și *microcriptozoiți. Macrocriptozoiții* (criptozoiții cu dimensiuni mai mari) vor ataca noi celule hepatice, iar *microcriptozoiții* (criptozoiții cu dimensiuni mai mici) vor ataca hematiile (fig. 322). Criptozoitul ce atacă hematia se mai numește în forma lui inițială, *trofozoit.* Primele hematii atacate de paraziți sînt cele din capilarele ficatului, iar de aci parazitul va fi difuzat în tot corpul.

Formele exoeritrocitare sînt lipsite de pigment.

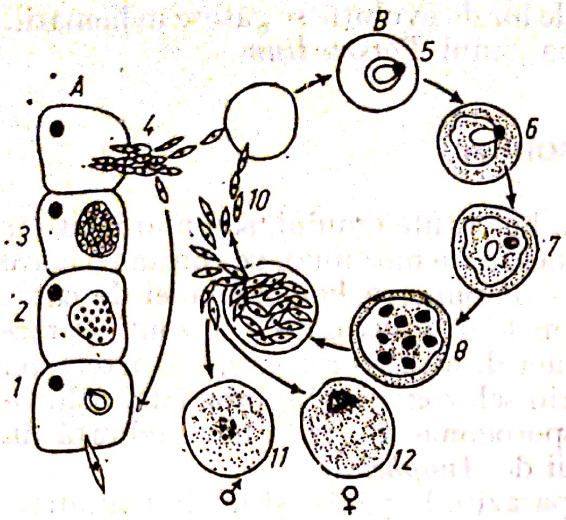


Fig. 322: Ciclul schizogonic la plasmodii:
(A) Faza exoeritrocitară din ficat; (1) sporozit pătrunzînd în celula hepatică; (2) plasmodiu; (3) individualizarea criptozoiților în celula plasmodială; (4) criptozoiți; (B) Faza eritrocitară; (5) inel; (6) inel deformat; (7) amoebă; (8) prerozetă; (9) rozetă; (10) merozoiți; (11) gametocit mascul; (12) gametocit femel; (schemă în parte după *Brumpt*, 1949).

Ciclul exoeritrocitar are rol în producerea recăderilor, celula hepatică asigurînd o oarecare protecție parazitului, față de acțiunea medicamentului.

b) **Faza eritrocitară.** *Merozoitul (trofozoitul)* care a parazitat o hematie, ia forma de inel cu cromatina excentrică și cu o vacuolă centrală — *inelul cu pecete*. Pe măsură ce parazitul evoluează, inelul se mărește, se deformează; este faza de *inel deformat*, după care, parazitul continuînd să crească, își pierde forma regulată și se transformă într-o formă mobilă — *forma amoeboidală* sau *amoeba*. Hemoglobina degradată prin asimilare (se asimilează numai compușii neferoși), se aglomerează în protoplasmă, sub formă de granulații închise la culoare, constituind *pigmentul (hemozoina)*. Apoi nucleul se divide; este faza de *prerozetă*, după care se individualizează cîte o bucățică de protoplasmă în jurul fiecărui nucleu, dînd naștere la un număr variabil de merozoiți, după specie. Forma cu merozoiți se numește *rozetă*.

În interiorul prerozetei și rozetei, granulațiile sînt în grupe compacte. Hematia parazitată distrusă se rupe; rozeta de asemenea se rupe și pune în libertate merozoiții, care atacă noi hematii (fig. 322).

După un număr de cicluri eritrocitare, unii dintre merozoiți, nu își mai divid nucleul, în schimb își acumulează protoplasmă și capătă granulații numeroase și astfel se formează elementele sexuate, *gametociții*: *gametociți femeli* și *gametociți masculi* (fig. 322). Aceștia nu pot evolua mai departe în sîngele omului. Schaudin, afirma că gametociții femeli ar mai putea evolua, urmînd ciclul schizogonic (evoluție regresivă). Această teorie a fost valabilă pînă ce s-a descoperit ciclul exoeritrocitar (în 1935, la păsări și în 1948, la om), care explică foarte bine recăderile.

Gametociții rămîn în sînge, pînă sînt luați de gazda nevertebrată (țînțarul *Anopheles* femel, în cazul plasmodiilor umane), în corpul căreia, va avea loc ciclul sporogonic (sexuat).

2) **Ciclul sporogonic** (sexuat). Acest ciclu are loc în intestinul mediu al țînțarului (stomacul țînțarului), unde *gametocitul mascul*, își divide nucleul în 4—5 nuclei, după care, aceștia se deplasează spre periferia gametocitului, de unde își individualizează cîte o bucățică de protoplasmă, dînd naștere la niște formațiuni alungite, ca niște flageli, care se vor desprinde de corpul gametocitului (exflagelare), devenind astfel *gameți masculi*, iar restul din fostul gametocit, rămîne ca protoplasmă reziduală.

Gametocitul femel, după eliminarea unui globul polar (maturare), dă naștere la un singur *gamet femel*, care, în urma fecundării, va da naștere la un *ou* mobil (*ookinet* sau *zigot*). Ookinetul pătrunde printre celulele intestinului mediu al țînțarului și rămîne în grosimea peretelui, fiind reținut de seroasa acestui organ. Ookinetul va crește, dînd naștere la un *oocist*; acesta va evolua și își va divide nucleul în numeroși nuclei, dînd formația denumită *sporoblast*, apoi, fiecare nucleu își va individualiza cîte o mică particulă de protoplasmă, formînd astfel *sporozoiții*; întreaga formație, ce conține acești sporozoiți, se numește *sporocist*. Cînd sporozoiții au ajuns la completa lor dezvoltare, peretele sporocistului se rupe punînd în libertate sporozoiții în hemolimfa țînțarului, cu ajutorul căreia sînt împrăștiați în tot corpul și mai cu seamă în glandele salivare, iar de aci, odată cu înțepătura și împreună cu saliva acestuia, ajung în sîngele omului (fig. 323).

Perioada de la introducerea parazitului în organism, sub forma de sporozoit și pînă la apariția acestuia în hematii, se numește incubație parazitară și poate fi de 10—12 zile, iar uneori poate ajunge la 6—8 luni.

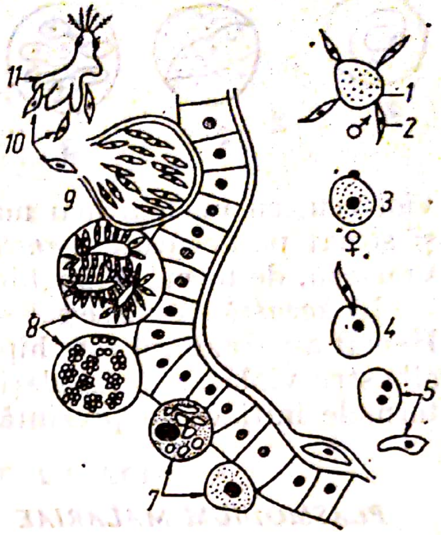


Fig. 323: Ciclul sporogonic la plasmodii:

(1) gametocit mascul; (2) gamet mascul; (3) gamet femel; (4) fecundarea gametului femel; (5) ookinet; (6) ookinetul pătrunde în peretele intestinului mediu al țînțarului: (7) oocist; (8) sporoblast; (9) sporocist; (10) sporozoiți; (11) glandele salivare ale țînțarului (schemă în parte după Brumpt, 1949).

CARACTERELE MORFOLOGICE ALE SPECIILOR DE PLASMODIUM

PLASMODIUM VIVAX

Forma de inel — *inelul cu pecete* — cum mai este denumit, are protoplasma ca un arc, nucleul format dintr-o singură granulă de cromatină, vacuolă mare și ocupă 1/3—1/2 din hematie.

Amoeba este de formă neregulată, cu excrescențe ce au aspect de pseudopode; cînd este vie prezintă mișcări amoeboide vioaie.

Prerozeta are un contur neregulat și 2—10 mase de cromatină.

Rozeta, cu 14—24 merozoiți (în medie 16), are aspect muriform și cu pigmentul diseminat printre merozoiți.

Gametociții, rotunzi sau ovalari, cu granule de pigment baciliforme, sînt mai mari decît hematia normală; *gametocitul mascul*, are citoplasma albastru-

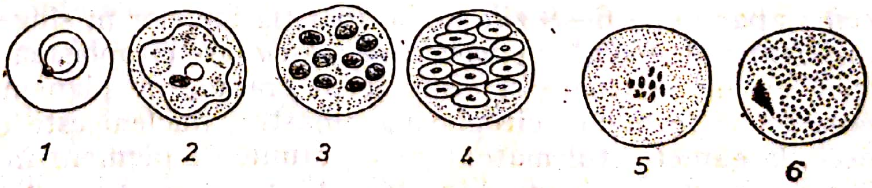


Fig. 324: Plasmodium vivax.

Caracterele morfologice ale formelor eritrocitare: (1) inel; (2) amoebă; (3) prerozetă; (4) rozetă; (5) gametocit mascul; (6) gametocit femel (schemă).

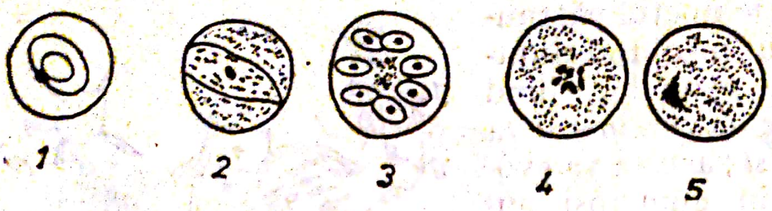


Fig. 325: ***Plasmodium malariae.*** Caracterele morfologice ale formelor eritrocitare: (1) inel; (2) amoebă; (3) rozetă; (4) gametocit mascul; (5) gametocit femel (schemă).

violaceu, cu nucleul mai mare și mai puțin compact ca la *gametocitul femel* și situat paracentral; *gametocitul femel*, are citoplasma albastră și nucleul violaceu, de formă triunghiulară și situat marginal.

La această specie se găsesc, în sîngele periferic, toate formele schizogonice. Hematia parazitată este hipertrofiată și are granulații fine, roșu-violaceu sau albastru-violaceu (granulații Schüffner), ce apar începînd de la amoebă; formele inițiale nu prezintă granulații (fig. 324).

PLASMODIUM MALARIAE

Inelul are protoplasma mai compactă, nucleul mai mare și vacuola mai mică, ca la *Plasmodium vivax* și ocupă 1/3—1/4 din hematie.

Forma amoeboidă (amoeba) nu prezintă pseudopode, este puțin mobilă și dispusă transversal în hematie.

Rozeta, cu 8—12 merozoiți, dispuși ca petalele unei margarete (rozetă în margaretă), iar în centrul acesteia, se află pigmentul și restul de citoplasmă.

Gametociții apar în primele zile ale ciclului eritrocitar, sînt ovalari sau rotunzi și mai mici decît hematia normală; în rest, au aceleași caractere ca și gametociții de *Plasmodium vivax*.

În sîngele periferic sînt toate formele schizogonice. Hematia parazitată este de aceeași dimensiune cu hematia normală, sau, uneori, este puțin retractată și prezintă, după colorare, granulațiile lui Ziemann, care sînt mult mai fine, decît granulațiile lui Schüffner (fig. 325).

PLASMODIUM FALCIPARUM

Inelul este foarte fin, cu nucleu mic și protoplasmă subțire; uneori, inelul are două granule de cromatină, sau se pot găsi două, sau mai multe inele într-o hematie; ocupă circa 1/6 din hematie.

Schizonții sînt mici și conțin granule fine de pigment, de culoare cafeniu închis.

Rozeta are 24—32 merozoiți, mult mai mici ca la celelalte specii.

Gametociții apar după 6—8 zile de la apariția inelelor în sînge și sînt de formă semilunară (falciformă); *gametocitul mascul* are citoplasmă de culoare roșu-violaceu, cu nucleu mare și difuz și cu granule de pigment în jurul său, iar *gametocitul femel* are citoplasma albastră, nucleul este compact și mai mic decît la gametocitul mascul și cu granule de pigment în jurul său.

În sîngele periferic, nu se găsesc decît inele și gametociți; celelalte forme ale ciclului schizogonic, se găsesc în organele interne (măduva oaselor, ficat, splină) și numai în cazuri grave se pot găsi și în sîngele periferic.

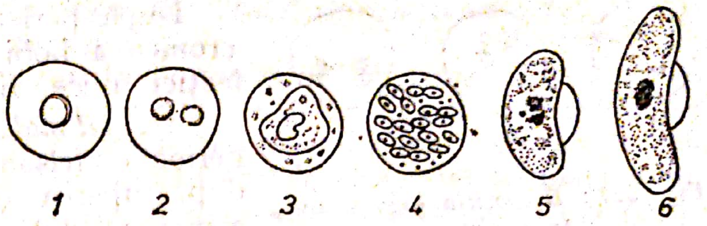


Fig. 326: *Plasmodium falciparum*. Caracterele morfologice ale formelor eritrocitare: (1) inel; (2) dublu inel; (3) amoebă; (4) rozetă; (5) gametocit mascul; (6) gametocit femel (schemă).

Hematia parazitată este de aceeași dimensiune cu hematia normală și prezintă, după colorare specială, petele lui Maurer, pete azurofile de culoare roșu-cărămiziu, mari, neregulate, cu centrul mai clar (fig. 326).

ALTE CRITERII DE DIFERENȚIERE A SPECIILOR DE PLASMODIUM

Modul de dispunere a pigmentului în oociști.

Plasmodium vivax, are dispus pigmentul în oocist, sub forma literelor „X" și „Y".

Plasmodium malariae are dispus pigmentul în oocist, sub formă de grămezi, sau diseminat în interiorul acestuia, iar granulațiile de pigment sînt mult mai mari ca la *Plasmodium vivax*.

Plasmodium falciparum are dispus pigmentul în oocist, sub formă de arc, sau sub formă de grămezi (fig. 327).

Durata schizogoniei și sporogoniei.

La *Plasmodium vivax*, schizogonia durează 48 ore, iar sporogonia 12 zile.

La *Plasmodium malariae*, schizogonia durează 72 ore, iar sporogonia 24 zile.

La *Plasmodium falciparum*, schizogonia durează 24—48 ore, iar sporogonia 16 zile.

Longevitatea paraziților în organismul uman.

Plasmodium vivax poate trăi 2—3 ani.
Plasmodium malariae poate trăi 6—20 ani.
Plasmodium falciparum poate trăi 1—2 ani.

MALARIA (PALUDISMUL)

Plasmodiile, provoacă *malaria* sau *paludismul*, boală endemo-epidemică care, se caracterizează clinic prin accese febrile, fiind însoțită și de hepato-splenomegalie și anemie. Incubația variază cu specia de parazit, cu numărul de sporozoiți inoculați și cu rezistența gazdei, fiind de 14—16 zile în malaria provocată de *Plasmodium vivax*, de 25—40 zile în cea provocată de *P. malariae* și de 10—12 zile în cea cu *P. falciparum*, după care se instalează perioada acută a bolii, cu accese mai mult sau mai puțin tipice și care durează 20—30 zile.

Boala se declanșează numai după ce numărul de paraziți a atins un anumit prag (circa 200 paraziți pe mm^3 de sînge).

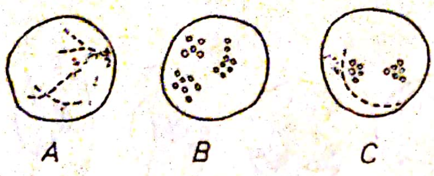


Fig. 327: Dispoziția pigmentului în oociști:

(A) la *Plasmodium vivax*; (B) la *Plasmodium malariae*; (C) la *Plasmodium falciparum* (scheme după preparate microscopice).

După perioada acută urmează perioada cronică a bolii care poate fi datorită fie infecției unice, fie reinfecției.

Accesul malaric se caracterizează prin trei perioade: frison, febră, transpirație și apare după ruperea rozetelor și punerea în libertate a merozoiților.

Forme de malarie.

Plasmodium vivax, provoacă *malaria terță benignă*, caracterizată prin accese febrile care se repetă după 48 ore (tot a treia zi).

Plasmodium malariae, provoacă *malaria quartă*, caracterizată prin accese febrile care se repetă după 72 ore (tot a patra zi).

Plasmodium falciparum, provoacă *malaria cotidiană* (malaria terță malignă, malaria aestivo-autumnală, sau malaria tropică), caracterizată prin accese febrile care se repetă fie la 24 ore (cotidian), fie la 48 ore (tot a treia zi).

Tipuri de acces malaric. În funcție de forma de malarie, accesele se clasifică în două categorii:

— *acces de tip terț-quart,* ca la malaria terță benignă, sau ca la malaria quartă, caracterizat prin cele trei perioade net distincte: frison 1/2—1 oră, febră circa 6 ore și transpirație circa 2 ore;

— *acces de tip cotidian* (*malign*), ca la malaria cotidiană, caracterizat prin faptul că, din cele trei perioade, predomină mai mult febra; frisonul și transpirația fiind foarte scurte, sau pot lipsi.

Transmisiune. Se face de către țînțarul *Anopheles* femel. La noi în țară, specia care transmitea malaria era *Anopheles maculipennis.*

Simptome. După perioada de incubație, care după cum am arătat mai înainte, variază cu specia de plasmodiu, cu numărul de sporozoiți inoculați și cu rezistența gazdei, urmează o perioadă prodromală de 2—10 zile în malaria acută primară, cu manifestări clinice necaracteristice (febră neregulată cu mici ascensiuni, sau în platou, oboseală, cefalee, mialgii sau artralgii, dureri abdominale, uneori diaree). Urmează apoi accesul malaric care se manifestă cu frison, febră și transpirație.

În timpul frisonului, bolnavul tremură, fața, mîinile și picioarele îi sînt reci și cianozate, are mialgii (mai ales lombalgii), cefalee, stare de neliniște. La sfîrșitul frisonului, temperatura urcă pînă la 40°C, chiar și mai mult. Bolnavul poate delira, e confuz, somnolent, prezintă un facies congestionat, are sete mare, însoțită uneori de greață, vărsături și diaree. Frisonul durează în jur de 1 oră.

Febra, durează 3—4 ore în infestarea cu *Plasmodium vivax*, 4—5 ore în acea cu *P. malariae* și pînă la 20 ore în acea cu *P. falciparum*.

Transpirația este profuză și poate dura 2—5 ore, după care temperatura corpului scade la normal sau subnormal, bolnavul simțindu-se mai bine însă epuizat.

În timpul accesului pot apărea, deseori, erupții peteșiale sau urticariene și herpes.

Boala se însoțește de splenomegalie, care provoacă durere în hipocondrul stîng ce se accentuează prin palpare și anemie, ajungîndu-se uneori chiar la

1 milion de hematii pe mm³ de sînge, iar uneori de sindroame de nefrită-nefroză (hematurie cu hematii parazitate).

Accesele se succed regulat, în funcție de specia de hematozoar : la interval de 48 ore în infestarea cu *Plasmodium vivax*, de 72 ore în cea cu *P. malariae* și de 24—48 ore în cea cu *P. falciparum*. Succesiunea este valabilă pentru infestările unice și corespunde ciclului schizogonic al speciei de plasmodiu, în infestările duble sau triple, însă, cu aceeași specie de parazit, sau cu specii diferite, accesele pot apărea în fiecare zi.

După o succesiune de 10—12 accese, la intervale regulate, acestea vor apare tot mai rar, bolnavul intrînd în perioada de latență a bolii, ce durează de obicei cîteva săptămîni sau cîteva luni, uneori un an, timp în care, la unele din cazuri, nu se observă nimic clinic și nici la examenul parazitologic al sîngelui, sau pot apărea accese de recidivă, cu frecvență și durată variabilă, ce reproduc accesele primare, caracterizate însă printr-o evoluție mai puțin gravă.

Malaria cronică. La această formă de malarie, se poate ajunge în regiunile endemice, la bolnavii subnutriți expuși permanent suprainfestării și tratați incomplet și care pot face infecții repetate. Asemenea persoane, au faciesul teros, subicteric și infiltrat, au anemie intensă (în jur de 1 milion de hematii pe mm³ de sînge), hemoragii cutaneo-mucoase, tulburări hepatice, renale și ale organelor de simț, edeme ale membrelor inferioare, anorexie, limbă uscată, diaree ; ficatul este sensibil la acești bolnavi, splina mult mărită de volum, dură și dureroasă, abdomen mare cu ascită. La cei denutriți, se poate ajunge la cașexie malarică, ce duce la exitus, în cazul în care nu se aplică tratamentul adecvat.

Malaria la copii. În general copiii, fac forme mai grave ca adulții. Boala este rară înainte de vîrsta de 6 luni și excepțională înainte de 3 luni. Copiii se infestează în aceleași împrejurări ca și adulții. Fătul se poate infesta transplacentar, sau în momentul nașterii, din sîngele organelor genitale, prin cordonul ombilical, sau prin pielea traumatizată.

Sugarii și copiii sub 2 ani pot face forme tipice de malarie, dar și forme monosimptomatice, în care predomină fenomene nervoase (somnolență, convulsii, accese tetanice), sau fenomene digestive (vărsături, icter sau subicter, manifestări disenteriforme), sau forme pernicioase ce se traduc prin fenomene neurotoxice, algide, sau cerebrale și mai ales comatoase.

Malaria de inoculare. Apare după transfuzii sau injecții cu sînge și se caracterizează prin incubație lungă (de cîteva săptămîni), debut brusc, prin accese febrile fără faza de primo-invazie și evoluție în general mai benignă.

Forme grave ale malariei. Asemenea forme, se întîlnesc din ce în ce mai rar și apar ca urmare a erorilor de diagnostic, sau a lipsei tratamentului specific. Aceste forme sînt următoarele :

Accesul pernicios, ce apare de obicei în infestările cu *Plasmodium falciparum*, datorită virulenței speciei, masivității infestării și reactivității slabe a organismului. Se manifestă cu cefalee violentă, neliniște, somnolență, ajungînd în 2—3 ore la comă.

Coma malarică, care se instalează cu somnolență, facies inexpresiv, contracții tonico-clonice, cu febră (uneori apirexie). Evoluția sa este gravă dacă nu se face tratament.

Febra bilioasă hemoglobinurică, datorită unor hemolizine specifice (eritrocitele distruse se comportă ca antigene), dar și chininei (administrată, în trecut, ca tratament), care are acțiune hemolitică, se manifestă prin hemoglobinurie masivă, icter și febră.

Imunitatea în malarie apare la un mare număr de bolnavi, în funcție de evoluția și durata acestei parazitoze. Ea se datorește, în mare măsură, sistemului reticulo-endotelial, este specifică fiecărei specii de plasmodiu, și este mai mult tisulară și numai parțial umorală.

În ultimul timp, s-a reușit să se pună în evidență anticorpi malarici.

Anatomie patologică. În malarie, se observă atît modificări macroscopice, mai ales în splină, ficat, creier, care prezintă congestie și pigmentare accentuată cenușiu-negricioasă, cît și edem, hemoragii vasculare, tromboze prin paraziți și pigment malaric. Ca o complicație gravă și relativ frecventă, este și ruptura splinei, care, se produce de obicei, în cursul tumefierii acute a organului, fiind deseori în legătură și cu traumatismele abdominale.

Diagnostic. Diagnosticul clinic se face după simptomele descrise. Diagnosticul de laborator se face prin depistarea paraziților pe lame de sînge (în picătură groasă și frotiu), colorate prin metoda May-Grünwald Giemsa. Diagnosticul diferențial se face cu leishmanioza viscerală, febra de 3 zile (prin virus transmis de flebotomi) și cu sindromul Banti.

Tratament. Se face un tratament schizontocid (care se adresează formelor parazitare asexuate) cu chloroquină (aralen) + pirimethamină (daraprim) și un tratament gametocid (care se adresează formelor sexuate — gametociți —) cu primaquină, după următoarea schemă :

În țara noastră, malaria fiind eradicată, se face un tratament radical al cazurilor care pot apărea. Există un tratament curativ și unul preventiv. Tratamentul curativ se aplică la toți cei confirmați hematologic. La suspecții de malarie, se aplică tratamentul în doză unică, administrîndu-se la un adult, per os, chloroquină 0,30 g + pirimethamină (daraprim) 0,025 g.

Cura radicală, la cei confirmați, se aplică astfel : la un adult, în primele trei zile, se administrează cîte 0,30 g chloroquină + pirimethamină (daraprim) 0,025 g pe zi, după care urmează tratamentul gametocid cu primaquină, cîte 0,015 g pe zi, timp de 14 zile.

Tratamentul preventiv, în țara noastră nu se mai aplică, malaria fiind eradicată ; se administrează totuși, la persoanele care pleacă în zone tropicale, chloroquină 0,30 g + pirimethamină 0,025 g la un adult, odată pe săptămînă, pe tot timpul cît stă în zona malarică.

Profilaxie. În afară de profilaxia individuală, prin medicamente, se va acționa, atît față de masa impaludată (oamenii bolnavi), cît și față de agentul vector.

Răspîndire. La noi în țară malaria a avut o răspîndire inegală, fiind foarte răspîndită în zonele sub 100 m altitudine. În urma unei campanii antimalarice începută în anul 1947, s-a ajuns la eradicarea acestei boli, actualmente ne mai depistîndu-se cazuri de malarie decît cu totul sporadic. Pe glob însă, ea încă persistă în unele regiuni.

MICROORGANISME INCLUSE PROVIZORIU ÎN CLASA SPOROZOARE

FAMILIA TOXOPLASMIDAE

Cuprinde specii fără pigment, ce parazitează uneori leucocitele vertebratelor și niciodată hematiile. Din această familie, interesează medicina genul *Toxoplasma*.

GENUL TOXOPLASMA

Include paraziți de formă semilunară, cu unul din poli mai îngroșat (toxon = arc), cu un singur nucleu și o formație vacuolară paranucleară (corp paranuclear), care trăiesc intracelular și a căror înmulțire se face în două moduri: prin diviziune longitudinală, formînd grămezi ce simulează diviziunea schizogonică (*pseudoschizogonie*) și prin *schizogonie*, observată mai rar în celulele viscerale. Poziția sistematică a acestui gen nu este încă definitiv stabilită; majoritatea caracterelor morfologice și biologice, înclină pentru introducerea lui în clasa *Sporozoare*. Interesează medicina *Toxoplasma gondii*.

TOXOPLASMA GONDII

Sinonimie. *Toxoplasma hominis*, *Encephalitozoon chagasi*.

Morfologie. Parazitul are o formă alungită, semilunară, cu unul din poli mai îngroșat, avînd dimensiuni de 6—8 microni lungime și 2—3 microni grosime, cu un singur nucleu aproape central, spre partea mai îngroșată a corpului și cu o formațiune vacuolară (corpul paranuclear), situată în jumătatea mai ascuțită a corpului. Prin înmulțire binară, formează un fel de chisturi, care nu au un perete propriu, denumiți pseudochiști. Parazitul, pătrunde și în leucocite, unde începe să se înmulțească, pînă umple toată zona citoplasmatică chiar și o parte din nucleu (fig. 328).

Gazde și localizare. Parazitează omul și diferite animale homeoterme și poikiloterme (mamifere, păsări, reptile, pești), localizîndu-se intracelular, în celulele parenchimatoase ale ficatului, pulmonului, splinei, creierului, în celulele reticulo-endoteliale, în leucocite. Parazitul are afinitate deosebită pentru celulele sistemului nervos; la copii, mai ales, se localizează în celulele peretelui ventricular.

Rol patogen. Parazitul provoacă boala denumită toxoplasmoză, care poate fi congenitală și cîștigată. Toxoplasmoza congenitală este transmisă fătului în timpul sarcinii, de către mama infestată, care poate să aibă boala sub formă latentă sau manifestă, iar toxoplasmoza cîștigată este afecțiunea contractată în timpul vieții.

Simptome. Toxoplasmoza congenitală poate duce, uneori, la moartea fătului; alteori, sarcina este dusă la termen și copilul se naște aparent sănă-

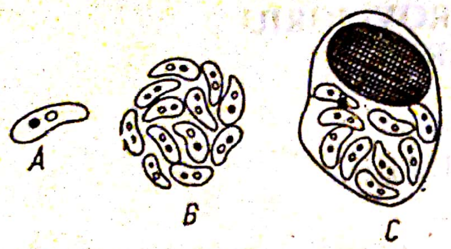


Fig. 328 : *Toxoplasma gondii* :
(A) schema parazitului; (B) pseudochist conținînd toxoplasme; (C) leucocit mononuclear invadat de toxoplasme (scheme după preparate microscopice).

tos, pentru ca peste cîteva săptămîni, să se declanșeze boala. În alte cazuri, copilul se naște cu malformații, de origine toxoplasmică, asemenea malformații se întîlnesc însă destul de rar.

Toxoplasmoza congenitală se prezintă sub două forme clinice :

Forma icterică, cu icter ce se accentuează pe zi ce trece și care duce la moartea copilului, cu hepatomegalie și uneori și cu simptome neuro-oculare, întîlnită mai rar.

Forma neuro-oculară, care se manifestă prin simptome neurologice, craniene și oculare și care este întîlnită cel mai frecvent. În această formă de boală, ca semne neurologice, se remarcă convulsiile, tulburările de tonus (hipo- sau hipertonie), mai rar paralizii, modificări de reflexe, tulburări neurovegetative, lichid cefalorahidian xantocromic, cu hiperalbuminoză și ușoară limfocitoză. Ca semne craniene, se remarcă micro- sau hidrocefalie, calcificări intracraniene, decelabile la examenul radiologic (semn patognomonic). Semnele oculare se remarcă prin existența unei chorioretinite mono- sau bilaterale, care atingînd polul posterior al globului ocular și macula, antrenează ambliopie și uneori strabism consecutiv. Această formă, în unele cazuri, are o evoluție rapidă, fatală ; în alte cazuri, boala se stabilizează, însă cu sechele grave, dintre care, mai importantă este întîrzierea psihomotorie.

Toxoplasmoza cîștigată. Oricare ar fi calea de intrare a parazitului, se pare că sistemul limfatic reacționează primul. După o fază limfo-ganglionară, toxoplasmele ajung pe cale hematogenă în diferite țesuturi (țesut nervos, muscular, hepatic etc.), unde se fixează. Se disting mai multe forme de toxoplasmoză cîștigată :

Forma ganglionară, întîlnită cel mai frecvent, care se manifestă prin adenopatii ce apar după cîteva simptome generale și care afectează regiunea cervicală, occipitală, sub-angulo-maxilară, regiunile axilare și inguinale, ganglionii epitrochleeni. Ganglionii atinși sînt tari, mobili și de mărime variabilă. Evoluția adenopatiei este lentă, durînd mai multe luni și este în general benignă. În această formă, numai biopsia ganglionară pune diagnosticul.

Forma septicemică sau hematogenă este forma cea mai gravă, cu evoluție adesea mortală și corespunde la o inoculare masivă de paraziți. Se întovărășește totdeauna de erupție, de unde și numele ce i se mai dă, de formă exantematică, cu elemente maculo-papuloase, amintind manifestările din rickettsioze. Această formă poate da loc la complicații cardiace, nervoase, pulmonare, musculare, hepatice.

Forma nervoasă, meningee, cu evoluție gravă și *mielitică*, semnalată mai rar.

Forma oculară întovărășește o toxoplasmoză gravă. Au fost descrise iridociclite, adesea trenante și recidivante, uveite și chorioretinite, evoluînd în pusee. Cicatricele lăsate la polul posterior al globului ocular au adesea un aspect pseudo-colobomatos caracteristic.

Forme cu tulburări ale altor organe (tulburări hepatice cu icter, pulmonare, sinovio-articulare, miocardice, anemie).

În afară de aceste forme manifeste, toxoplasmoza se mai poate întîlni și sub formă inaparentă sau latentă, forma cea mai frecventă și care este asimptomatică, decelabilă numai serologic, atunci cînd se fac examene în masă. Din această categorie, fac parte și gravidele care dau naștere la copii cu toxoplasmoză congenitală, situație în care trebuie de avut în vedere și unele simptome ce s-ar fi putut să le fi prezentat, ca de exemplu : astenie, adenopatie ușoară, metroragii, exantem trecător, tabloul clinic al mononucleozei infecțioase.

Transmisiune. Nu este încă binecunoscută. Se pare că transmisiunea s-ar putea face direct, prin secreție salivară, nazală, urinară, vaginală, pe diferite căi : conjunctivală, rinofaringeană, sau indirect prin ingestie de carne sau alimente poluate. De asemenea, este posibilă și transmiterea prin vectori, diferite arthropode : acarieni, hemiptere, siphonaptere, diptere, ce ar putea transmite în mod mecanic parazitul.

Un alt mod de transmitere este de la mamă la copil, prin lapte, salivă etc. și de la mamă la făt, pe cale placentară (se pare că transmiterea de la mamă la făt se face numai în cazul cînd mama a contractat o toxoplasmoză recentă ; mamele cu toxoplasmoză cronică nu transmit boala). În fine, infecțiile de laborator constituie un alt mod de transmitere a acestei parazitoze.

Diagnostic. Diagnosticul clinic este dificil de stabilit. Prezența unei chorioretinite și a unor calcificări intracraniene, nu dau decît supoziția unei toxoplasmoze. Diagnosticul biologic este în multe cazuri mai concludent. Acesta se face, fie depistînd direct parazitul în produse patologice, fie indirect, pe bază de reacții imunobiologice.

Metodele directe, de punere în evidență a parazitului, folosesc examenul microscopic al preparatelor executate din sediment urinar, lichid cefalorahidian, amprente de organe, colorate cu metoda panoptică May Grünwald Giemsa, sau secțiuni la microtom, din diverse organe, colorate cu aceeași metodă.

În cazul cînd paraziții sînt prea rari și nu pot fi depistați pe preparate, se inoculează produsele patologice (lichid cefalorahidian, sediment de urină, secreție nazală sau oculară, triturat de organe în ser fiziologic), intraperitoneal, la șoarecele alb, în cantitate de maximum 0,50 ml. În cazul în care animalele inoculate, nu au făcut boala în 4—5 zile și continuă a se menține sănătoase, vor fi făcute totuși, treceri oarbe, de creier triturat, de la acestea, la alte animale indemne, tot la 3—4 săptămîni, uneori fiind necesare 5—6 treceri, pînă la decelarea toxoplasmelor, în exudatul peritoneal. Metodele directe de decelare a paraziților, se folosesc mai ales, în formele acute și subacute de boală, precum și la stabilirea diagnosticului prin necropsie.

Metodele indirecte, se bazează pe acțiunea dintre antigene și anticorpi, folosindu-se în cazul toxoplasmozei următoarele metode :

Testul de colorare vitală Sabin-Feldman, care se bazează pe proprietatea ce o capătă toxoplasmele vii, extracelulare, ținute în ser de bolnav, de a nu se mai colora cu albastru de metilen, datorită dizolvării organitelor colorabile din paraziți, de către anticorpii specifici, din serul sîngelui bolnavului, activați de un factor accesoriu, care se găsește atît în sîngele celor bolnavi, cît și a celor sănătoși. Acest test este foarte sensibil și specific, devenind pozitiv la 7—10 zile de la declanșarea infecției și menținîndu-se pozitiv 2—4 ani.

Reacția de fixare a complementului este o metodă mai puțin precisă, ce apare pozitivă la 10—15 zile de la infecție, menținîndu-se pozitivă 1—2 ani. În această reacție, se folosește, ca antigen, exudatul peritoneal cu toxoplasme, de la șoarecele alb, sau extracte alcoolice din diferite organe de la șoarecele alb parazitat (inimă, plămîni, ficat, splină), sau exudatul din membrană chorioalantoidiană a embrionului de găină, parazitat cu toxoplasme.

Hemaglutinarea este o altă metodă folosită din ce în ce mai des, în ultima vreme, întrebuințîndu-se ca antigen, un preparat extras din exudatul peritoneal de la șoarecele alb, parazitat cu toxoplasme, iar hematiile folosite sînt, fie de oaie (proaspete sau formolate), fie de om (grupa 0), Rh negative

Intradermoreacția cu toxoplasmină. Se obține toxoplasmina prin distrugerea corpului celular al toxoplasmelor, prin înghețare la —70° C și dezghețare la +37 °C repetată, folosindu-se apoi în diluție de 1/750—1/1000. Se folosește ca martor ser fiziologic fenolat 0,25% preparat cu apă bidistilată. Se inoculează intradermic, pe fața anterioară a antebrațului, aproape de plica cotului, 0,06 ml antigen, iar la 10 cm mai jos, aceeași cantitate de soluție martor. Reacția este pozitivă dacă, după 24—48 ore, la locul unde s-a făcut inocularea antigenului, apare o papulă eritematoasă, cu un diametru de cel puțin 10 mm, însoțită uneori și de indurație, iar martorul rămîne negativ. Reacția devine pozitivă la 3—4 săptămîni de la invazie și se menține toată viața.

Tratament. Nu există încă un tratament specific. S-au obținut rezultate bune cu sulfamide, administrate mult timp; astfel, se administrează sulfadiazina cîte 0,035 g/kg.corp, asociată cu pirimethamina (daraprim), cîte 0,001 g/kg.corp și hidrocortizon 0,080 g/doză, timp de 2—4 săptămîni.

În lipsa sulfadiazinei, se încearcă astăzi înlocuirea ei cu sulfametoxidiazina (sulfametin, Bayrena, Dulana), în tablete a 0,50 g. Se începe cu o doză de 1—2 g (2—4 tablete) în prima zi, urmată în zilele următoare, de cîte o tabletă, de preferință după mese. La copii, se administrează 30—40 mg/kg.corp în prima zi și 10—15 mg/kg.corp în zilele următoare.

S-au mai încercat sulfonele și un antibiotic fungic, spiramicina. Se pare că, sulfadimidina acționează diminuînd capacitatea de sinteză a acidului folic, de către parazit, în timp ce pirimethamina ar acționa substituindu-se la acest acid, în metabolism, de unde eficacitatea asociației dintre cele două substanțe. Pe de altă parte, pirimethamina este indispensabilă pentru a împiedica infecția de a trece în stadiul cronic.

Epidemiologie. Toxoplasmoza este o antropozoonoză, foarte răspîndită, exceptînd zonele polare, unde este aproape inexistentă; numărul cazurilor crește, pe măsură ce ne apropiem de zonele calde.

Rezervorul de paraziți îl constituie omul și diverse animale: maimuța, cîinele, pisica, porcul, oaia, boul, iepurele, vulpea, veverița, dihorul, rața, porumbelul etc., precum și animalele de laborator: șoarecele alb și cobaiul.

Profilaxie. Se recomandă, respectarea normelor de igienă în crescătoriile de animale și în abatoare, echipament de protecție față de paraziții vectori, consumarea alimentelor și în special a cărnurilor și a laptelui, numai după tratare termică, controlul periodic al gravidelor și tratarea celor cu serologie pozitivă.

Răspîndire. Se întîlnește pe tot globul avînd o incidență de 1—5%.

LV. CLASA CILIATA

Cuprinde protozoare cu corpul acoperit, în parte sau în totalitate, cu cili, care îi servesc la mișcare, iar unii din ei la prehensiunea hranei, cu doi nuclei : un macronucleu, cu rol în viața vegetativă și un micronucleu, cu rol în reproducere; mai posedă un citostom (un mic orificiu pe unde ingeră hrana) și un citoproct (un alt mic orificiu pe unde elimină produsele ce nu le poate asimila). Înmulțirea ciliatelor se face prin diviziune directă transversală și, periodic, prin conjugare. În condiții nefavorabile, formează chisturi. Majoritatea lor sînt ființe libere. În această clasă sînt incluse 4 ordine, din care, numai ordinul *Heterotriche,* interesează medicina umană.

ORDINUL HETEROTRICHE

În acest ordin, sînt cuprinse ciliate, care au corpul acoperit în întregime, cu cili scurți și de aceeași mărime, în afară de zona adorală (din jurul orificiului bucal), unde cilii sînt mai lungi și mai puternici, decît în restul corpului și adesea sudați între ei, formînd membranèle. Un singur gen interesează medicina : genul *Balantidium.*

GENUL BALANTIDIUM

Include *Ciliate heterotriche,* cu corpul oval sau fusiform, avînd un peristom puțin escavat, iar baza lui superioară fiind aproximativ triunghiulară. Specia care interesează medicina este *Balantidium coli.*

BALANTIDIUM COLI

Sinonimie. *Paramoecium coli, Balantidium giganteum.*

Morfologie. Forma vegetativă' este ovoidă, de 50—200 microni lungime și 50—100 microni grosime, prezintă la exterior o cuticulă pe care se află cili vibratili numeroși, așezați în șiruri longitudinale; la polul anterior, mai mic, se află peristomul, cu cili vibratili mai lungi, iar în fundul acestuia, se

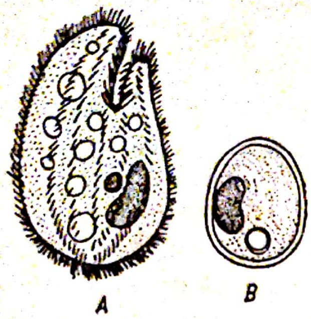


Fig. 329: *Balantidium coli*:
(A) forma vegetativă; (B) chistul (scheme).

observă citostomul. În interior, prezintă macronucleul, reniform, iar în concavitatea acestuia se află micronucleul; de asemenea, în citoplasma granulară a parazitului, se observă și numeroase vacuole; la polul posterior, mai voluminos, se află un mic orificiu, citoproctul, pe unde se elimină substanțele nedigerate și care este vizibil, numai cînd acesta funcționează (fig. 329).

Chisturile, imobile, de formă sferică sau ovalară, de 45—80 microni diametru, au la exterior, o membrană groasă, cu dublu contur, iar în interior, citoplasma granulară, conține un nucleu mare, reniform, (mai rar se observă și al doilea nucleu) și uneori, incluzii de glicogen (fig. 329). La om, parazitul se închistează într-un procentaj redus; la porc, închistarea se produce într-un procentaj mult mai mare.

Gazde și localizare. *Balantidium coli*, parazitează porcul (la care este comensal), maimuța, omul și mai rar șobolanul. La om, trăiește, la început, comensal, după care, poate deveni patogen. Parazitul este localizat în colon.

Rol patogen. Parazitul provoacă omului, balantidioza (dizenteria balantidiană), boală gravă, asemănătoare cu dizenteria amoebiană, cu o mortalitate, în trecut, de 14—30% din cazuri. Infestarea omului se face prin consumul de alimente poluate cu chisturi, manipulare de excremente porcine, scăldatul în balta unde se scaldă și porci etc.

Simptome. Debutul bolii este colitic, cu diaree progresivă, care în 5—6 săptămîni ajunge la 8—15 scaune pe zi, păstoase sau lichide, brune, alcaline (de putrefacție), cu mucus și uneori cu sînge. Abdomenul este destins, dureros și adeseori apar colici; uneori dureri în bară datorite spasmelor colonului transvers. Bolnavul este afebril, totuși, starea sa generală se alterează treptat, ducînd la cașexie. Eosinofilia este de 5—10%, fără leucocitoză. Ulterior, apar semne de rectosigmoidită, cu scaune dizenteriforme (semn că hemoragia devine mai însemnată) și tenesme.

La examenul rectoscopic, mucoasa apare congestionată și presărată din loc în loc, cu pete mici hemoragice, punctiforme sau lenticulare, proeminente, printre care se văd ulcerații cu marginile puțin ridicate, așezate perpendicular pe axul intestinului. Aceste pete, prin confluență, iau un contur policiclic. Sub mucoasă, ulcerațiile sînt întinse și prezintă fundul necrotic sau purulent. Poate metastaza, dînd perirectite, limfangite, abcese hepatice sau peritonita balantidiană.

Transmisiune. Se face pe cale bucală, prin ingestia chisturilor, provenite de la porci, odată cu alimentele (în special cîrnați preparați din intestin de porc, consumați cruzi), prin manipularea excrementelor de porcine, prin scăldatul în bălți în care se scaldă și porcii; un rol în transmisiune îl au și muștele.

Diagnostic. Se face depistînd formele vegetative vii, pe preparate microscopice directe, executate din fecale proaspăt emise; uneori se găsesc și chisturi. Se pot face și frotiuri, din fecale parazitate, colorate prin metoda May-Grünwald Giemsa.

Tratament. În cazul cînd predomină fenomene de colită, se va institui regim alimentar, în funcție de scaun (putrefacție, fermentație), apoi se trece la regim lactat cu 70% cazeină, timp de 3 săptămîni. În caz de rectită dureroasă, se fac clisme cu ser fiziologic și supozitoare antispasmodice — analgetice.

Ca medicație antiparazitară, s-au încercat, thymolul, stovarsolul și emetina, fără rezultate constante. Arsafenul pare mai bun ; de asemenea, aureomicina și teramicina. În ceea ce privește teramicina, noi am obținut rezultate foarte bune, la un copil de 5 ani, folosind cîte 0,75 g pe zi teramicină, administrată per os, timp de 10 zile. Am obținut rezultate bune și cu streptomicină, la 3 adulți, cărora le-am administrat acest antibiotic, per os, cîte 1 g pe zi, timp de 10 zile.

Menționăm și tratamentul cu metronidazol, folosit în doză ridicată, ca la amoebiază, adică cîte 8 comprimate pe zi, timp de 10 zile, cu care, Nitzulescu și colaboratorii au obținut rezultate bune, la un caz tratat la Secția clinică de parazitologie din București.

Controlul eficacității tratamentului se va face după regim amidonat, care stimulează dezvoltarea paraziților.

Profilaxie. Se face prin măsuri de igienă individuală și generală, împiedicarea poluării solului și a apei cu fecale de porci și prin măsuri de dezmuștizare.

Răspîndire. Pe tot globul, într-o incidență foarte scăzută.

PARAZIȚI CU POZIȚIE SISTEMATICĂ NESIGURĂ

GENUL PNEUMOCYSTIS

Este un gen, a cărui poziție sistematică, nu este încă bine stabilită. Unii autori (Jirovеč), consideră că ar trebui inclus între *Haplosporidii*, grup de graniță între protozoare și protofite, iar alți autori (Giese, Schmidt), îl încadrează între *Sacharomycete*, deși structura sa este cu totul diferită, de aceea a ciupercilor. Specia care interesează medicina umană este *Pneumocystis carinii*.

PNEUMOCYSTIS CARINII

Morfologie. Este de formă rotundă, ovalară sau piriformă, de dimensiuni cuprinse între 1,5—2 microni, avînd un singur nucleu, iar la exterior posedă o pătură mucoidă groasă, încît cu aceasta, parazitul are un diametru de 7—10 microni. Se înmulțește prin diviziune binară, divizîndu-se atît parazitul propriu-zis, cît și pătura mucoidă care va înveli pe cei doi paraziți fii care au luat naștere. După un număr de diviziuni, parazitul se transformă în sporoblast, după care începe diviziunea sporogonică, cînd nucleul se divide în 8 nuclei, după care, fiecare nucleu se înconjoară cu o porțiune de protoplasmă și astfel iau naștere 8 spori, de 1—2 microni diametru, de formă ovalară sau piriformă (fig. 330).

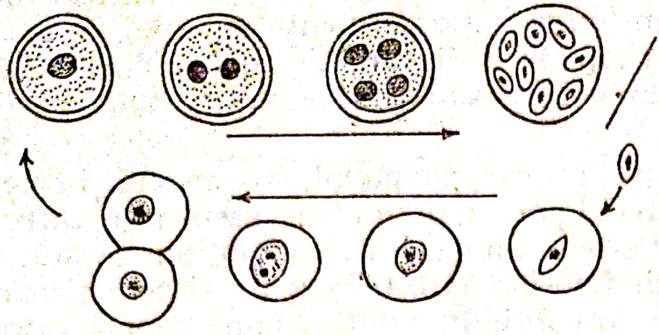


Fig. 330 : *Pneumocystis carinii* : schema ciclului de dezvoltare. Rîndul de sus : diviziunea binară a parazitului în globii mucoși. Rîndul de jos : sporogonie (după *Jirovec*, 1960).

Gazde și localizare. Parazitează omul (în special copiii) și unele animale (șobolani, iepuri, cobai), localizîndu-se în alveolele pulmonare, unde îngrămădirile de paraziți, dau formația areolată particulară ,,în fagure de miere''.

Transmisiune. Se poate face direct, de la bolnavii de pneumocistoză și indirect, prin persoanele care au venit în contact cu copiii bolnavi. Parazitul poate trece și transplacentar. Se pare că pentru declanșarea bolii este necesar ca să existe și anumite condiții din partea gazdei, între care, bolile debilitante, tratamente îndelungate cu corticosteroizi, sau cu vitamina D în doze mari. Unii autori consideră că acest parazit nu ar fi decît un adjuvant al unui virus, care ar declanșa o viroză, unde parazitul ar juca un rol agravant.

Rol patogen. Parazitul provoacă (sau poate complica) o pneumonie interstițială la om (în special la sugari, în primul trimestru de viață).

Simptome. Incubația variază între 1—8 săptămîni. Debutul este uneori insidios, alteori brusc, cu tulburări de deglutiție (copilul bea cu dificultate), nu mai crește în greutate. Urmează tulburări gastrointestinale care se manifestă mai ales prin vărsături și diaree. După 2—3 săptămîni, apare o tuse seacă, cu timbru metalic, uneori chintoasă, respirația devine grea și superficială, iar din nas se scurge o secreție albicioasă. Se mai constată dispnee, tahipnee, cianoză, dilatarea aripilor nasului și tiraj costal. La auscultație, se constată diminuarea murmurului vezicular și raluri crepitante, în anumite zone, din cauza condensării parenchimului, datorită prezenței paraziților.

Boala se poate complica cu un emfizem mediastinal subacut sau cu un pneumotorax spontan. Bolnavii sînt afebrili, sau, temperatura corpului poate fi de 37°C—37,5°C și mai rar ajunge la 39°C. Se mai constată, splenomegalie și mai ales hepatomegalie moderată, leucocitoză cu neutrofilie și VSH ușor crescută, îngroșarea alveolelor cu exudat în interiorul lor, ce duce la asfixie.

Durata bolii este de 7—14 zile, uneori pînă la 3 luni, iar letalitatea pînă la 60%, crescînd invers proporțional cu vîrsta sugarului. Vindecările aparente sînt urmate de recăderi, după 2—3 săptămîni.

La copiii mai mari, boala începe cu rinită și faringită, urmată de tuse chintoasă, de cîteva ori pe zi. Febra ajunge peste 39°C și este intermitentă. Pulsul, 150—160 pe minut, cianoză și asfixie.

Imaginea radiologică este a unei bronchopneumonii bilaterale, cu emfizem generalizat, localizat sau interstițial, observîndu-se densificări liniare sau în benzi, înconjurate de condensări, în insule mici sau în suprafețe mai mari. Modificările sînt de la hil spre periferie. În această afecțiune nu apar reacții pleurale.

Anatomie patologică. La copiii bolnavi, se constată o îngroșare a septurilor interalveolare, care sînt infiltrate cu limfocite și plasmocite, de unde și denumirea de pneumonie interstițială plasmocitară, (deși nu întotdeauna se găsesc plasmocite) și astuparea alveolelor, printr-un exudat ce conține numeroși paraziți. La adulți, apar numai insule, localizate, de pneumonie, cu exudat alveolar parazitar și cu septuri interalveolare, foarte puțin infiltrate, însă fibrozate, iar epiteliul alveolar este hiperplaziat în mai mare măsură ca la copii.

Diagnostic. Diagnosticul clinic este nesigur. Totuși, greutatea în respirație, care duce la tahipnee, creșterea numărului de respirații peste 50 pe minut, la un copil, trebuie să atragă atenția la posibilitatea unei pneumocistoze. Diagnosticul de laborator s-a încercat a se pune fie prin reacții imunobiologice, fie direct prin depistarea parazitului. Astfel s-a experimentat o reacție de fixare a complementului, folosindu-se ca antigen un extract apos sau acetono-alcoolic, din *plămîni cu paraziți*, proveniți de la necropsie, însă atît metoda de extragere a antigenului, cît și păstrarea acestuia, nu sînt încă bine puse la punct. În general titrul anticorpilor este maxim între ziua a 20-a și a 30-a și scade apoi repede.

Intradermoreacția, încercată de Jirovec̆ în 1954, cu antigen apos, extras din *plămîni parazitați*, nu a dat rezultate mulțumitoare la sugari.

Diagnosticul, în timpul vieții, se poate face prin depistarea paraziților pe preparate microscopice executate din secreția pulmonară sau faringeană (obținută prin aspirație), din spălătură gastrică sau din puncție pulmonară, colorate prin metoda May-Grünwald Giemsa, iar post mortem, pe preparate microscopice din pulmon (amprente sau secțiuni), colorate prin aceeași metodă.

Epidemiologie. Rezervorul de paraziți este constituit atît de copiii mici (1—3 luni) bolnavi, care elimină elemente infestante prin salivă (poate și prin scaun), cît și de copiii mai mari, și de adulți, care, deși nu fac boala, pot fi purtători. La aceștia din urmă, posibilitățile de diseminare cresc, prin înlesnirea înmulțirii paraziților în corpul lor, datorită unor boli intercurente (gripă etc.), sau după un tratament cu corticosteroizi. Purtători de Pneumocystis sînt și unele animale, mai ales șobolanii, însă infestarea lor este slabă.

Tratament. Nu există încă un tratament specific. S-au încercat sulfamide și antibiotice, dar fără rezultate satisfăcătoare. De asemenea nici micostaticele nu au fost eficiente.

Profilaxie. Se face prin măsuri de igienă generală și individuală : sterilizarea aerului din camerele copiilor, folosindu-se razele ultraviolete, desinfectarea încăperilor și a obiectelor care au venit în contact cu sugarii. Să nu fie ținuți prea mulți copii la un loc, ci cîte 2—4 în fiecare boxă. La primire în creșe, să se țină copiii în carantină, cel puțin 9 săptămîni și să se efectueze examenul serologic personalului creșelor. Să se facă deratizare și desinsectizare. În primele 4 luni de viață, sugarii să fie hrăniți cu lapte de sîn.

Unii autori recomandă și o profilaxie medicamentoasă cu Synthalin (Dodekamethylendiguanid), cîte 1—1,5 mg/kg.corp, timp de 7 zile, în a

5-a — a 6-a săptămînă de viață, repetîndu-se în aceeași doză și într-a 10-a săptămînă de viață.

Răspîndire. Parazitul a fost depistat, pînă în prezent, numai în cîteva țări din Europa.

BIBLIOGRAFIE

1. BELDING L.D: *Textbook of Clinical Parasitology* II. 1952, Appleton-Century-Crofts, New York.
2. BORNUZ M., DAHNOVICI V., ELIAS M., FAZAKAS B., FURTUNESCU G., GEORGESCU M., NITZULESCU V., SIMIONESCU O., UNGUREANU E.: *Parazitologie*, Manual pentru învățămîntul superior, 1962, Ed. Medicală, București.
3. BRUMPT E.: *Précis de Parasitologie*, 6ᵉ éd., 1949, Masson, Paris.
4. CALLOT J., HELUY J.: *Parasitologie médicale*, 1959, Ed. Flammarion, Paris.
5. DOGHELI A.V.: *Curs de Parazitologie generală*, partea I și II, 1947, Ed. de Stat, St. Pedagogică, Leningrad, (Traducere).
6. FURTUNESCU G.: *Lucrări practice de Parazitologie medicală*. 1964, Ed. Litografia Inst. de medicină și farmacie Iași.
7. FURTUNESCU G.: *Elemente de Parazitologie medicală*, 1965, Ed. Litografia Inst. de medicină și farmacie Iași.
8. GEORGESCU M., STEINBACH M., SIMIONESCU O., BELCHIȚĂ, A.: *Elemente practice de Parazitologie*, 1956, Ed. Medicală, București.
9. GHERMAN I.: *Elemente de epidemiologie a bolilor parazitare*. 1958, Ed. Medicală, București.
10. GHERMAN I.: *Coprologie clinică*. 1974, Ed. Medicală, București.
11. GOLVAN J.Y., DROUHET E.: *Tehniques en parasitologie et en mycologie*. 1972, Flammarion Médecine-Sciences, Paris.
12. JIROVEČ O.: *Parasitologie für Ärzte*. 1960, Veb Gustav Fischer, Verlag Jena.
13. NEVEU-LEMAIRE M.: *Traité de Protozoologie médicale et vétérinaire*. 1943, Vigot, Paris.
14. NITZULESCU V.: *Elemente de Parazitologie*, I. 1955, Ed. Inst. de medicină și farmacie, București.
15. NITZULESCU V., GHERMAN I., FELDIOREANU T.: *Parazitologie clinică*, 1964, Ed. Medicală, București.
16. NITZULESCU V., GHERMAN I.: *Cum tratăm bolile parazitare*. 1973, Ed. Medicală, București.

Partea a VII-a

MICOLOGIE MEDICALĂ

LVI. GENERALITĂȚI

Micologia medicală se ocupă cu studiul ciupercilor parazite ale omului (mykes = ciupercă ; logos = descriere) și a îmbolnăvirilor ce le provoacă, denumite cu un termen general *micoze*.

Definiție. Ciupercile, fungii (fungus = ciupercă) sau micetele (mykes = ciupercă), atît cele saprofite cît și cele parazite, sînt vegetale inferioare criptogame, lipsite de clorofilă, formînd o subîncrengătură care aparține încrengăturii *Thallophyta* (thallos = ramură ; phyton = plantă). Se hrănesc heterotrof și se înmulțesc prin spori sexuați sau asexuați. Aceasta este definiția clasică. Unii autori însă (Dobell, Langeron, Ansel și alții), consideră ciupercile ca fiind ființe, nici vegetale, nici animale, încadrîndu-le într-un regn aparte denumit *Protiste*.

Morfologie. O ciupercă este alcătuită din două părți : o parte vegetativă, numită *thal* (thallos = ramură) și una reproducătoare, reprezentată de *spori* și *aparatul sporifer* (sporos = sămînță). La unele ciuperci, thalul se confundă cu sporul, ca la ciupercile *holocarpice*, (holos = întreg ; karpos = fruct) ; la altele, thalul este deosebit de spor, ca la ciupercile *eucarpice* (eu = bun, perfect ; karpos = fruct).

Thalul, cu excepția la *Myxomycete* (mixa = mucus ; mykes = ciupercă), poate fi sub forma de celule globuloase, ovalare sau alungite, de 3—5 microni diametru, izolate unele de altele sau alăturate ca la ciupercile numite *levuri*, sau, sub formă filamentoasă cu filamente lungi de milimetri și cu diametrul de 1—10 microni, ca la *fungii filamentoși* (fig. 331) iar uneori poate să îmbrace ambele forme, în funcție de condițiile de mediu, așa cum se constată la *fungii dimorfi* (fig. 332).

Filamentele thalului, denumite încă și *filamente miceliene* sau *hife* (ifi = țesut), alcătuiesc împreună un *miceliu*, nume care se mai folosește, destul de frecvent, în locul denumirii *thal*.

Structură. Celula levurică, de formă sferică, ovală sau ovoidă, are o membrană ce conține mucopolizaharide. Ea apare net la celulele mature și prezintă un contur dublu, mai ales la chlamidospori. În interior se găsește citoplasma și nucleul. La celulele tinere citoplasma este uniformă ; la cele mature este fin granulară și conține vacuole, de obicei unice, de formă sferică (cel mai adesea), ovală sau alungită, granule de volutină (o substanță nucleoproteică) cu consistență de gel, de dimensiuni variate. Nucleul este compact sau fragmentat, uneori difuz, ca la bacterii.

Filamentul micelian este alcătuit tot dintr-un perete dublu, fiind format dintr-o membrană externă, pe alocuri granuloasă și dintr-o membrană internă mai subțire, între ele fiind un spațiu ce conține un lichid. Acest perete dublu închide un spațiu cilindric în care se află citoplasmă și mulți nuclei.

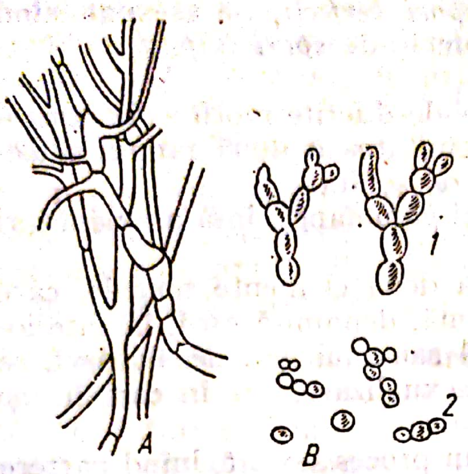


Fig. 331 : (A) Fung filamentos (*Aspergillus bronchialis*) (B) Levuri

(după Blumentritt, parțial, în Brumpt 1949); (1) levuri în șiraguri (*Candida kochi*) (după Wettstein, în Brumpt, 1949); (2) levuri izoate (*Cryptococcus lingue pilosae*) (după Lucet, parțial, în Brumpt, 1949).

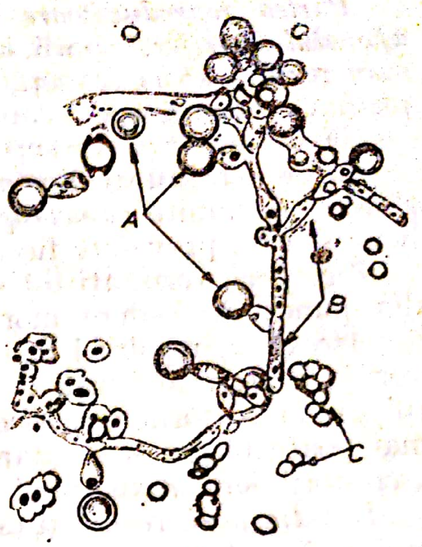


Fig. 332 : Fung dimorf : *Candida albicans* :

(A) chlamidospori; (B) pseudofilamente; (C) blastospori (după *Davis*, 1970).

În cazul filamentelor septate celulele ce compun un filament sînt separate prin membranele citoplasmice între care se interpune un spațiu septat, ce conține lichid așa cum există și între cele două membrane ce formează peretele filamentului.

Citoplasma are o structură canaliculară, ca la celulele animale, ca și cum ar avea un reticul endoplasmatic. Ea are un aspect hialin la periferie (hialoplasma) și granular la centru (granuloplasma). În filamentele septate citoplasma este continuă ca la filamentele neseptate, datorită porilor ce străbat septurile transversale.

În citoplasmă se află nucleii, cu o membrană dublă, de dimensiuni variabile adesea greu de observat din cauza micimii lor. În carioplasmă, care cuprinde unul sau mai mulți nucleoli, s-a pus în evidență prezența acidului dezoxiribonucleic. În citoplasmă se mai găsesc : mitocondrii de formă ovalară, ce se depistează ușor după niște creste caracteristice pe care le au (cristae mitochondriae), vacuole numeroase, care odată cu maturizarea celulei se contopesc de obicei într-o singură vacuolă mai mare și substanțe de rezervă (substanțe albuminoide, granule de grăsime, zaharuri etc.). De remarcat că zaharurile sînt depuse sub formă de glicogen, ca la animale, și nu sub formă de amidon, ca la vegetalele cu clorofilă.

Filamentele cresc fie apical, fie intercalar, creșterea fiind un proces determinat de diviziunea nucleilor. Levurile pot da și ele, în unele cazuri, forme filamentoase, prin alungirea celulei levurice și în urma înmuguririi acesteia, la una din extremități; mugurele se va alungi și el, dînd apoi un nou mugure și tot așa mai departe, toate aceste elemente rămînînd legate unul de altul vor forma un *pseudofilament*, iar mai multe asemenea pseudofilamente, un *pseudomiceliu*.

Partea reproducătoare la ciuperci este reprezentată de către *spori* și *aparatul sporifer*. Sporii iau naștere, fie printr-un proces sexuat, caz în care rezultă *spori sexuați*, denumiți încă și *spori perfecți*, fie asexuat, cînd rezultă *spori asexuați*, care mai poartă și numele de *spori imperfecți*.

Tipuri de spori sexuați (spori perfecți) :

Oospori, rezultați din fuzionarea a două celule diferite morfologic (anizogamie), denumite *gametangi*, formate la extremitatea a două ramuri miceliene scurte, provenite fiecare din cîte o hifă deosebită.

Zigospori, rezultați tot din fuzionarea a doi gametangi, însă asemănători din punct de vedere morfologic (izogamie).

Ascospori, rezultați la fel din contopirea a două elemente sexuale, care vor da naștere mai întîi la o formație sacciformă, denumită *ască*, în interiorul căreia se formează ascosporii (de obicei 4 sau multiplu de 4). Asca se mai poate forma și în afara unui proces de sexualizare, caz în care însuși ascosporii sînt sexualizați.

Basidiospori, rezultați de asemenea dintr-un proces sexuat, luînd naștere mai întîi o formație specială numită *basidie*, omoloagă ascei, ce va da 4 basidiospori, care nu rămîn însă în interiorul basidiei (ca ascosporii în ască), ci ies în afara ei, rămînînd alipiți de basidie prin niște pedicele, numite *sterigme*.

Tipuri de spori asexuați (spori imperfecți) :

Arthrospori, rezultați în urma fragmentării, în porțiuni egale a filamentelor miceliene și care se eliberează prin dezarticulare.

Blastosporii sînt caracteristici levurilor și se formează prin înmugurirea acestora, muguri ce cresc și apoi se separă de celula-mamă.

Aleurii, spori rezultați prin înmugurirea unor porțiuni mici dintr-un filament micelian în care se condensează protoplasma acestuia. Sînt spori ficși, legați de filamentul pe care au luat naștere, neputînd fi puși în libertate decît atunci cînd acesta se rupe și sînt spori constanți, obligatorii, care apar în condiții bune de viață.

Chlamidosporii, rezultați ca și aleuriile și eliberîndu-se tot la fel, în urma distrugerii filamentului micelian. Se diferențiază de aleurii prin faptul că chlamidosporii sînt mai mari și sînt spori de rezistență ocazionali, formați în condiții nefavorabile de viață. Există chlamidospori terminali, intercalari sau laterali.

Conidii, spori ce se produc ca și aleuriile cu care se aseamănă ca formă, însă conidiile nu sînt fixate definitiv de filamentul micelian ci se desprind ; filamentul micelian după desprinderea lor, continuă să producă alte conidii.

Sporangiospori, ce iau naștere tot asexuat, într-o formație sferică denumită *sporange*, rezultată prin dilatația extremității unui filament micelian, sporange în care se formează numeroși sporangiospori.

Compoziție chimică. Ciupercile au o structură mai complexă decît bacteriile. Astfel în compoziția membranei citoplasmatice intră steroli,peretele lor avînd ca principale elemente de structură polimeri de hexoze și hexozamine. Membrana celulară a levurilor are în compoziția ei un fosfoglucoproteid ce conține azot și fosfor. Levurile conțin mulți acizi nucleici și pe măsură ce îmbătrînesc crește conținutul în grăsimi. Mai conțin acid fosforic, săruri de K, Mg, Na, Si, Ca, S și oxid de Fe, iar glicogenul poate ajunge pînă la 30% din greutatea levurilor uscate. În citoplasmă, în afară de nucleul compact sau difuz se găsesc incluzii de volutină (ARN și metafosfați) și incluzii lipidice. Fungii mai conțin pigmenți cum ar fi citromycetina, citricina, pigment carotenoid, riboflavina etc. pigmenți ce se găsesc de obicei în spori. De asemenea ei dispun de o serie de enzime (amilaze, pectinaze proteinaze, lipaze etc.), cu ajutorul cărora pot folosi o serie largă de elemente pentru dezvoltarea lor.

Toxine. Ciupercile parazite, ca și bacteriile, pot produce exo- și endotoxine. Echivalente toxinelor, unele ciuperci, în anumite medii artificiale, pot produce substanțe utile omului, care inhibă dezvoltarea unor bacterii, denumite pentru acest motiv antibiotice (de exemplu penicilina).

Acțiuni ale ciupercilor parazite. Ciupercile parazite ale omului pot exercita diferite acțiuni asupra celor parazitați cum ar fi: acțiuni mecanice, toxice, iritative și inflamatorii, necrotice. Astfel unele ciuperci care se dezvoltă pe suprafața corpului sau în conductul auditiv, în trahee, în ramificațiile bronșice și în alte organe, prin filamentele lor miceliene pot îndepărta sau altera elementele din care este formată pielea, pot îngusta sau astupa conductul auditiv, traheea, ramificațiile bronșice etc. iar prin toxinele pe care le elaborează pot provoca fie inflamație locală, fie intoxicație generală iar în unele cazuri, prin fermenții histolitici eliberați de unele ciuperci pot produce necroza țesuturilor.

Reacții ale organismului la infestarea cu ciuperci. La invazia micotică organismul reacționează prin reacții celulare, fagocitoza fiind un mijloc frecvent utilizat, sau hiperplazia unor țesuturi invadate de ciuperci. Alte reacții sînt cele inflamatorii și cele umorale; acestea din urmă prin formare de anticorpi conferă imunitate definitivă sau temporară, iar uneori imunitate polivalentă (o primă infestare cu o anumită specie protejează contra unei infestări ulterioare, chiar cu o altă specie, așa cum se întîmplă cu unii dermatofiți). Tot în această categorie sînt și reacțiile alergice spontane sau provocate (mai ales în unele dermatoze) denumite în general micetide (trichofitide, microsporide, favide, levuride, blastomicide etc.), care sînt niște leziuni sterile (fără elemente parazitare), ce apar la distanță de focarul primar de origine parazitară.

Medii de cultură. Ciupercile se pot cultiva, cu unele excepții, fie pe medii naturale, fie pe medii artificiale. Ca medii naturale se pot folosi laptele sterilizat, mustul de bere, decocturile de fructe, cartoful, morcovul, grăunțele de cereale și altele. Mediile artificiale pot fi lichide sau solide, cele mai folosite fiind mediul lichid a lui Sabouraud (preparat din glucoză, maltoză sau dextroză 40 g, peptonă 10 g, apă distilată 1000 ml), mediul solid al lui Sabouraud (preparat din aceleași substanțe ca mediul lichid la care se adaugă agar-agar 18—25 g) și mediul Czapek (preparat din glucoză 20 g, nitrat de amoniu 2 g, fosfat dipotasic 1 g, sulfat de magneziu 0,5 g, clorură de potasiu 0,5 g, sulfat feros 0,01 g și apă distilată 1000 ml.)

Adaptări morfologice la ciuperci. Condițiile de mediu pot produce ciupercilor acțiuni morfogenetice cum ar fi *polimorfismul* și *pleomorfismul*. Polimorfismul este un fenomen de adaptare prin care una și aceeași specie de ciupercă poate lua aspecte diferite macro- și microscopice de la un mediu de cultură la altul. Pleomorfismul — așa cum îl înțelege Sabouraud — este o modificare stabilă, ciuperca fiind incapabilă de a mai reveni la tipul primitiv, ciupercile pleomorfizate prezentînd caractere noi.

Clasificarea fungilor. Subîncrengătura *Fungi* sau *Mycetes* cuprinde două grupe: *Eumycetes* și *Archimycetes*, din care numai în prima grupă sînt incluse ciuperci care interesează medicina.

Grupa *Eumycetes* cuprinde 4 clase: *Phycomycetes*, *Ascomycetes*, *Basidiomycetes* și *Fungi imperfecti* (*Deuteromycetes* sau *Adelomycetes*), ultima clasă incluzînd cea mai mare parte dintre fungii paraziți la om. În schema alăturată, se indică locul pe care îl ocupă o parte din genurile de micete în sistematică, precum și locul micetelor în încrengătura *Thallophyta*. (tabel 135).

RAMURA EUMYCETES

În ramura *Eumycetes* sînt incluse numai ciupercile adevărate, eucarpice și cuprinde 4 clase: *Phycomycetes*, *Ascomycetes*, *Basidiomycetes* și *Fungi imperfecti*, această ultimă clasă mai avînd și numele de *Deuteromycetes* sau *Adelomycetes*.

Tabelul 135

Clasificarea fungilor și poziția acestora în încrengătura Thallophyta

Schemă după *Polemann*, 1961 — în parte — în Mitroiu, 1976

Încrengătura	Subîncrengătura	Grupul	Clasa	Ordinul	Familia	Genul
Thallophyta	Bacteriophyta					
	Myxophyta					
	Mycetes (Fungi)	Eumycetes	Phycomycetes	Chytridiales	Coccidiaceae	Coccidioides Rhinosporidium
				Mucorales	Mucoraceae	Mucor Rhizopus Absidia
			Ascomycetes	Protascales (Endomycetales)	Endomycetaceae	Saccharomyces Pichia Hansenula Debaryomyces
				Plectascales	Aspergillaceae	Aspergillus Penicillium Paecilomyces Scopulariopsis Allescheria
					Gymnoascaceae	
			Basidiomycetes	Ustilaginales	Ustilaginaceae	Ustilago
					Tilletiaceae	Tilletia
				Uredinales	Pucciniaceae	Puccinia Uromyces
			Fungi imperfecti (Deuteromycetes sau Adelomycetes)	Moniliales (Hyphomycetales)	Cryptococcaceae	Cryptococcus Torulopsis Pityrosporum Candida Trichosporum Rhodotorula Malassezia
					Moniliaceae	Trichophyton Microsporum Epidermophyton Geotrichum Sporotrichum Histoplasma Blastomyces Trichoderma Cephalosporium Monosporium
					Dematiaceae	Stachybotrys Cladosporium Alternaria Hormodendrum Phialophora
					Tuberculariaceae	Fusarium
		Archimycetes				
	Algae					
	Lichenes					

LVII. CLASA PHYCOMYCETES

Phycomycetele (fikos = algă ; mikes = ciupercă), se caracterizează prin thalul alb sau pigmentat, la care filamentele nu prezintă septuri transversale decît la punctul de formare al organelor reproducătoare. Aceasta este definiția clasică, numai în parte corectă, întrucît la un mare număr de specii din genul *Mucor*, apar pereți transversali în filamentele miceliene bătrîne, iar la alte *Mucoraceae* apar septuri, destul de numeroase, chiar de la începutul dezvoltării lor. Se reproduc asexuat sau sexuat. În primul caz, uneori, produc *conidii*, iar obișnuit spori mobili — *zoospori* — ce nasc într-un *zoosporange*. În al doilea caz, din două elemente sexuale, egale și asemănătoare din punct de vedere morfologic (*isogamie*), ia naștere un *zigospor* ; sau, din două elemente sexuale, inegale și diferențiate morfologic, ia naștere un *oospor*.

În cele două ordine : *Chytridiales* și *Mucorales*, ale acestei clase, sînt cuprinse specii ce pot provoca, uneori, îmbolnăviri omului. Astfel, din primul ordin, interesează medicina, din familia *Coccidiaceae*, genul *Coccidioides*, iar din al doilea ordin, din familia *Mucoraceae*, genul *Rhizopus*.

GENUL COCCIDIOIDES

Speciile acestui gen se caracterizează prin faptul că eliberează sporii prin dehiscența chisturilor (chisturi de 3—80 microni diametru) și prin dezvoltarea rapidă (48 ore) pe toate mediile, dînd culturi de culoare albă, pufoase, formate din filamente septate, ce poartă numeroși chlamidospori, izolați sau în lanțuri. Inocularea la cobai cu posibilă generalizare. La om dă leziuni pulmonare la început, apoi cutanate sau osoase și mai rar mucoase (în caz de generalizare).

Specia tip : *Coccidioides immitis*

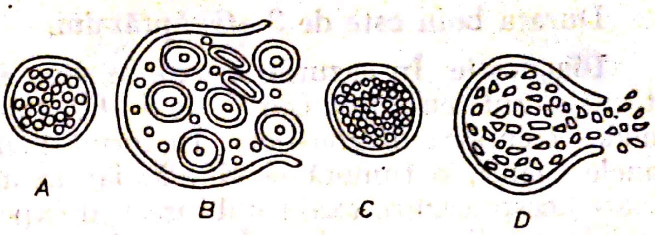
COCCIDIOIDES IMMITIS

Sinonimie. *Coccidioides pyogenes, Micoderma immite, Oidium immitis*

Morfologie. În țesuturile corpului, în puroi și în spută se prezintă sub formă sferică, avînd 3—80 microni diametru, cu o membrană groasă de 3—6 microni ce are, uneori, asperități în formă de bolduri sau spini. În interiorul acestor celule nasc sporii, în număr de 50 pînă la 100 ; nu se observă niciodată înmugurire externă (fig. 333).

Fig. 333 : *Coccidioides immitis* :

(A) chist tînăr vegetativ; (B) chist vegetativ deschis dînd naştere la chişti tineri; (C) chist tînăr din generaţia infectantă; (D) chist matur dînd naştere la corpusculi granuloşi şi hialini infectanţi (după *Posadas*, în Brumpt, 1949).



Culturi. Se dezvoltă pe medii cu geloză dextrozată, sub forma unui miceliu ramificat şi septat ce prezintă şi numeroase filamente aeriene lipsite de conidii. Culturile sînt la început rotunde, cenuşii, translucide, puţin ridicate deasupra substratului, iar mai tîrziu pătrund profund avînd un mare număr de filamente miceliene septate, care produc *arthrospori*. Coloniile mai vechi iau o coloraţie albă, opacă, datorită numeroşilor *chlamidospori* intercalari, izolaţi sau în lanţuri, de pe filamentele aeriene. Uneori, în aceste culturi, se pot găsi corpi sferici, aşa cum se găsesc în nodulii şi puroiul abceselor de inoculare. Cultivată pe medii anaerobe, (lichid de ascită sau ser gelatinat, cu adăugirea unui fragment de ţesut steril), această ciupercă dă naştere la spori endogeni, ca în organismul animal. *Coccidioides* acidifică mediile cu lactoză, sucroză, arabinoză, glucoză, fără a le fermenta şi lichefiază lent, gelatina.

Culturile conţin o substanţă coccidioidina, un amestec probabil de endotoxină şi exotoxină, care se poate extrage şi cu care se pot obţine reacţii alergice, la animale de experienţă şi om.

Rol patogen. Provoacă coccidioidoza sau dermatita cu Coccidioides, boală răspîndită mai mult în America. Infecţia se produce pe cale respiratorie, prin inhalarea sporilor de pe solurile aride, mai ales în sezonul uscat şi cald decît în cel ploios, datorită vîntului care duce departe praful, ce conţine sporii acestei ciuperci.

Rezervorul de virus îl constituie omul, cîinele şi mai puţin bovideele, care fac infecţii ganglionare.

Simptome. Primele simptome sînt cele pulmonare, boala putînd apărea ca un guturai banal, o gripă uşoară sau debutează cu dureri reumatismale. Uneori, se manifestă ca o inflamaţie pulmonară care simulează tuberculoza, existînd şi caverne pulmonare care, în general, se cicatrizează spontan. Alteori, boala ia forma generalizată, granulomatoasă, cînd se formează abcese reci în toate organele şi în piele, pline de elemente fungice parazitare, forma cea mai gravă, cu sfîrşit letal în 50—60% din cazuri, dar care, din fericire, este şi cea mai rară.

Incubaţia este de 1—3 săptămîni după care boala începe cu stare de rău general, bronşită fără expectoraţie, sau, uneori, cu expectoraţie muco-purulentă care conţine sferule de ciupercă, cefalalgie, curbatură, tuse, simptome care sînt însoţite, uneori de eritem nodos ce apare de la a 8-a la a 15-a zi, mai ales la nivelul tibiilor, dar şi la pumni, pielea capului acoperită cu păr, braţele şi partea superioară a toracelui, care dispare în 2—4 zile, lăsînd în urmă o pigmentaţie brună. De remarcat că un prim atac însoţit de eritem nodos, pare să confere imunitate.

La examenul radiologic se constată opacitate pulmonară şi hipertrofie a ganglionilor hilari.

Durata bolii este de 3—6 săptămîni.

Diagnostic. În cazurile uşoare se face examinînd sputa în care se depistează sferule cu dublu contur de 5—60, chiar 80 microni. Apariţia eritemului nodos complică diagnosticul. În formă generalizată, boala poate simula, în unele cazuri, o tumoră cerebrală, iar în alte cazuri, diferite dermatite. În toate aceste cazuri, examenul direct al expectoraţiei sau al puroiului permite stabilirea diagnosticului. În caz de incertitudine, se pot face inoculări intraperitoneale la cobai, care este foarte sensibil, precum şi culturi. Reacţiile serologice nu au dat rezultate sigure. Reacţii alergice nete s-au obţinut la om, bou şi cobai, utilizînd coccidioidină, preparată după tehnica de preparare a tuberculinei (preparată de Beck, Traum şi Harrington).

Tratament. Este strict simptomatic. Unii autori par să fi înregistrat rezultate bune prin administrare de cupru coloidal de ioduri şi de tartrat dublu de antimoniu şi de potasiu. În unele cazuri de leziuni cutanate şi de osteomielită este necesar tratamentul chirurgical.

GENUL RHIZOPUS

Genul *Rhizopus* se caracterizează prin prezenţa rhizoizilor (organe de fixare), şi prin faptul că sporangioforii pornesc din aceleaşi puncte ale filamentelor miceliene, de unde îşi au originea şi rhizoizii, numai că aceştia din urmă se îndreaptă şi se fixează de substratul nutritiv, în timp ce sporangioforii pornesc în direcţie opusă, ei fiind aerieni. Punctele comune de emergenţă ale rhizoizilor şi sporangioforilor realizează aşa-numitele noduri. Un alt caracter este că sporangiile sînt mari, de culoare neagră, cu columelă emisferică aşezată pe o apofiză. Specia ce interesează medicina este *Rhizopus nigricans*.

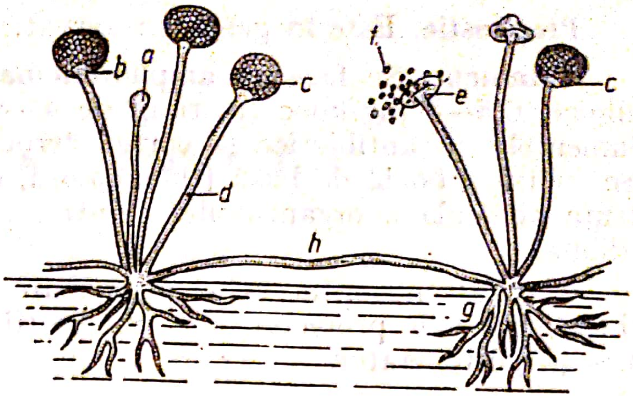
RHIZOPUS NIGRICANS

Morfologie. Se prezintă sub forma de filamente miceliene rampante (stoloni), cu numeroşi rhizoizi, care formează o pătură albă, cu pedunculii sporangiferi drepţi, ridicaţi în sus şi terminaţi prin sporangii sferice de culoare neagră, la maturitate. Columela este la început cilindrică, de 2—3 ori mai lungă decît groasă, apoi se lărgeşte, prezentînd la maturitate aspectul unei calote sferice şi care se încovoaie după dehiscenţa sporangiului, luînd forma de umbrelă deschisă (fig. 334). Sporii sînt de formă ovalară, netezi, de culoare cenuşie cînd sînt văzuţi separat şi de culoare neagră cînd sînt văzuţi în grămezi.

Culturi. Se fac pe mediul Sabouraud sau Czapek, obţinîndu-se după 3—4 zile de incubare la temperatura camerei, colonii difuze, pufoase, cu micelii aeriene, de culoare albă la început, devenind cu timpul de culoare cenuşiu-murdar. La examenul microscopic, fungii prelevaţi din cultură, vor putea fi identificaţi după caracterele morfologice descrise şi după sporangiofori, care sînt grupaţi în fascicule.

Fig. 334: *Rhizopus nigricans*:

(a) sporange tînăr; (b) columelă; (c) sporange matur; (d) sporangiofor; (e) columelă vidată avînd deasupra sporangiospori; (f) sporangiospori; (g) rhizoizi; (h) stolon(după *Zarnea*, 1970).



Rol patogen. *Rhizopus nigricans* cît și speciile înrudite *R. equinus* și *R. parasiticus*, precum și alte genuri din familia *Mucoraceae* (*Mucor, Absidia*), pot provoca afecțiuni pulmonare, care se încadrează în grupa mucormicozelor pulmonare, de obicei afecțiuni secundare, determinate fie de debilitarea organismului de către unele boli cronice (tuberculoză, diabet, leucemii, etc.), fie de tratamentele de lungă durată cu antibiotice sau hormoni corticosteroizi. Cît privește ciuperca *Rhizopus nigricans* a mai fost întîlnită și în cîteva cazuri de *limbă neagră piloasă* (cazul descris de Ciagunski și Hewelke și cele observate de Sendziak, toate citate de Brumpt).

Simptome. În mucormicozele pulmonare, debutul poate fi uneori insidios, alteori brusc (în caz de complicații cerebrale și sinusale), cu dispnee, febră, dureri toracice, anorexie, însoțite, în unele cazuri, de ulcerații bucale sau ale limbii, limfadenopatie și hepatosplenomegalie. Bolnavul expectorează o spută mucoidă, cu mulaje bronșice, adesea de culoare neagră. La examenul radiologic apar imagini nespecifice de leziuni infiltrative, densificări pneumonice, cavități, îngroșări perihilare și peribronșice etc.

Diagnostic. La examenul direct al sputei, numai rareori se poate depista ciuperca; însămînțarea pe mediul Sabouraud sau Czapek este un mijloc mai sigur de diagnostic, luîndu-se însă măsuri de precauție, spre a nu se contamina cu sporii din aerul atmosferic. După 3—4 zile, se obțin colonii care, în caz de *Rhizopus nigricans*, sînt de culoare cenușie-negricioasă, cu sporangiofori grupați în fascicule, în caz de *R. equinus*, colonii albe la început, apoi brune, cu sporangiofori izolați, iar în caz de *R. parasiticus*, colonii cenușii-brun-gălbui, cu sporangiofori ramificați. De reținut că *R. nigricans* se dezvoltă la o temperatură sub 37°C, iar celelalte două specii la 37°C.

În sprijinul diagnosticului se mai pot face inoculări intraperitoneale la șoareci sau cobai, cu suspensii de ciuperci în ser fiziologic. Animalele se sacrifică după 3 săptămîni de la inoculare și se constată, în caz pozitiv, microabcese în rinichi, ficat și ganglioni limfatici, iar în lichidul din aceste organe, obținut prin presiune mecanică, se pun în evidență, la examenul direct, ciupercile respective.

Diagnosticul diferențial, se face cu tuberculoza pulmonară (cu care însă, poate coexista), cu aspergiloza bronhopulmonară și alte afecțiuni micotice (care se pot diferenția prin examenul sputei și prin culturi), cu pneumoniile, abcesele, tumorile benigne sau maligne și alte afecțiuni pulmonare.

Prognostic. Este în general rezervat.

Tratament. Se face cu amphotericina B, administrată în perfuzii i.v., zilnice, 0,5—1 mg/kilocorp, timp de 4—8 săptămîni. Se vor întrerupe tratamentele cu antibiotice și corticosteroizi, care favorizează generalizarea. Se va trata boala de bază (tuberculoza, diabetul etc.) și se va susține rezistența generală a organismului printr-o alimentație substanțială, vitamine, odihnă.

În cazul mucormicozelor pulmonare bine localizate, se va interveni chirurgical sub protecția unei medicații antifungice cu amphotericina B pre- și postoperator.

LVIII. CLASA ASCOMYCETES

Ascomycetele (askos = sac; mykes = ciupercă) se caracterizează prin micelii cu filamente septate și — așa cum indică și numele — prin înmulțire, din care rezultă *ascospori*, spori sexuați ce iau naștere în niște formații sferice, alungite sau ovalare, numite *asce*, dar și prin spori asexuați (*conidii*). Din această clasă, interesează medicina două ordine:

— *Protascales* (*Endomycetales*), ce cuprinde ciuperci care nu au organe de fructificare și nici filamente miceliene ascogene, din acest ordin, numai familia *Endomycetaceae* incluzînd genuri ce au oarecare importanță medicală (*Saccharomyces*, *Pichia*, *Hansenula*, *Debaryomyces*);

— *Plectascales*, cuprinzînd ciuperci caracterizate prin aceea că au ascosporii închiși în organe de fructificare, ordin din care numai familia *Aspergillaceae* include genuri ce prezintă interes medical, (*Aspergillus*, *Penicillium*, *Paecilomyces*, *Scopulariopsis*, *Allescheria*). În ultima vreme, unii autori, consideră că și dermatofitele (*Trichophyton*, *Microsporum*, *Epidermophyton*), ar trebui să fie încadrate în acest ordin și să nu mai figureze în clasa *Fungi imperfecti* (*Deuteromycetes* sau *Adelomycetes*), ordinul *Moniliales*. (*Hyphomycetales*).

În cele ce urmează, se va descrie din această clasă, numai genul *Aspergillus*, una din speciile sale (*A. fumigatus*) fiind patogenă la om.

GENUL ASPERGILLUS

Sinonimie. *Eurotium*, *Sterigmatocystis*, *Diplostephanus*.

Ciupercile din acest gen se caracterizează prin conidiofori (capete aspergilare) simpli, avînd la extremitate o veziculă sferică, cu un diametru mai mare ca al filamentului, acoperită cu o pătură de ramuri mici, simple, numite *fialide*, dispuse radiar, care vor da naștere fiecare, la cîte un șirag de *conidii*. Totalitatea acestei fructificații are o înfățișare caracteristică asemănătoare cu o stropitoare prin găurelele căreia s-ar scurge apa, de unde îi vine și numele (aspergillum = pămătuf, perie de spălat sticle). Ciupercile din acest gen produc mai tîrziu și *perithece*, în care iau naștere *asce*, rotunjite sau piriforme, ce conțin 4—8 *ascospori* lenticulari.

ASPERGILLUS FUMIGATUS

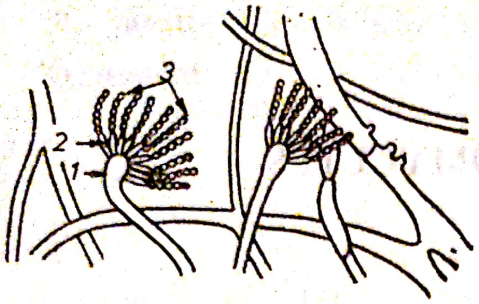


Fig. 335: *Aspergillus fumigatus*: (1) umflătură a hifei sporifere ce poartă fialide (2), pe care sînt inserate şiraguri de conidii (3) (schemă după Langeron, parţial, în Brumpt, 1949).

Morfologie. Ciupercă filamentoasă, formînd un miceliu de culoare albăstruie, cenuşie sau verzuie, alcătuit din filamente cu diametrul de 2—3 microni. Conidioforii sînt relativ scurţi, cu extremităţile îngroşate, ca nişte măciuci, avînd diametrul de 8 — 10 microni, îngroşări pe care se observă nişte prelungiri simple, de formă eliptică, numite *fialide*, ce au o lungime de 6—14 microni. Acestea sînt dispuse radiar la suprafaţa extremităţii rotunjite a conidioforilor şi poartă fiecare cîte un şirag de conidii de formă aproape sferică (mai rar ovală), netede, cel mai adesea incolore, avînd un diametru de 2—3 microni. Întregul organ de fructificaţie este transparent la început, devenind apoi (la maturitate), galben-albăstrui, verde sau cenuşiu-închis (fig. 335).

Culturi. *Aspergillus fumigatus* creşte uşor pe mediul Sabouraud sau Czapek, temperatura optimă de dezvoltare fiind către 37° C. În 5—6 zile de la însămînţare se obţin colonii catifelate, cu aspect pudrat, de culoare albă la început, devenind apoi verzi, albastre, marginile coloniilor păstrîndu-şi, uneori, culoarea albă. În medii puţin propice, cum ar fi geloza glicerinată, culturile devin fuliginoase (ca funinginea), de unde şi numele speciei *A. fumigatus*.

Rol patogen. Sporii acestei ciuperci se găsesc frecvent pe cereale, fîn uscat, frunze uscate, la suprafaţa solului sau în praf. Ca parazit, *A. fumigatus*, a fost întîlnit la numeroase păsări domestice şi sălbatice, la care le produce infecţia sacilor aerieni, infecţie pneumonică, infecţie nodulară a pulmonilor. Mai rar, această specie, provoacă leziuni ale traheei şi a pulmonilor la mamifere (bovidee, ovidee şi cu totul excepţional la ecvide). La om provoacă aspergiloza pulmonară traheobronşică, bronhopneumonia pleurală, aspergilomul pulmonar, otomicoza aspergilară, endocardita aspergilară şi septicemii.

Simptome. În infecţiile pulmonare, simptomele sînt similare cu cele din tuberculoza pulmonară : tuse, expectoraţie mucoidă sau mucopurulentă, cu striaţiuni sanghinolente sau hemoptizii, febră, pierdere în greutate, oboseală, transpiraţii nocturne, stare generală alterată. În forma traheobronşică predomină durerile presternale şi tusea cu expectoraţie mucoidă ce conţine elemente miceliene şi spori, iar febra este redusă. În forma bronhopneumonică, întîlnită mai ales la bărbaţi, de cele mai multe ori unilaterală, în lobul superior, este uneori cu debut acut, cu febră pronunţată, stare generală alterată, dispnee, tuse cu expectoraţie mucopurulentă, hemoptizii, iar în cazurile grave, cu cazeificări a parenchimului pulmonar. Ambele forme pot evolua, spre diseminare, pe cale hematogenă sau bronhogenă, o formă foarte gravă.

Aspergilomul pulmonar, de obicei unilateral, apare secundar, ca o infecţie a unor cavităţi preexistente (cavităţi tuberculoase, chiste pulmonare, abcese postpneumonice, bronşiectazii). Există însă şi aspergiloame primare, cazuri în care cavitățile apar după dezvoltarea ciupercii. În aspergilomul pulmonar, predomină hemoptiziile repetate, precum și evoluția neinfluențată de antibiotice.

Forma pleurală, apare de obicei, endogen, în cavitățile pleurale restante după exereze, ciuperca pătrunzînd în aceste cavități, prin fistula bronșică, dar și exogen, în urma puncțiilor pleurale și a spălăturilor pleurale. În această formă, lichidul pleural devine vîscos, de culoare brun-șocolatiu și este inodor.

În otomicoza aspergilară, care este mai frecventă decît cea mucoreeană, simptomele subiective sînt puțin caracteristice, uneori inexistente. Bolnavii pot avea, în unele cazuri, prurit, mai mult sau mai puțin intens, zumzet (bîzîit) în urechi și dureri vii, mai ales în timpul nopții, vertij, tuse, surditate (completă sau nu). În conductul auditiv, se vede un dop, de culoare verzuie sau brună, format de miceliul și capetele aspergilare acoperite de spori, iar sub acest dop, timpanul este roșu și sîngerînd.

Endocardita aspergilozică, mult mai rară decît cea candidozică, este de obicei secundară, dar și primară, uneori, prin transfuzii sau perfuzii multiple, efectuate în condiții nesterile. Această formă, după o incubație de la cîteva zile la cîteva săptămîni, începe cu febră, frison, anorexie, grețuri, vărsături, dureri abdominale. În perioada de stare, apare și spleno- și hepatomegalia, peteșii tegumentare sau conjunctivale, hemoragii, suflu cardiac și semne de insuficiență cardiacă, dureri precordiale, insomnie, cefalee, adinamie, dureri în membrele inferioare, pierdere în greutate, noduli Osler (mici leziuni eritematopapuloase, moderat dureroase, ce apar pe pulpa degetelor sau lobulul urechii, prin endoteliză, în endocardita lentă malignă), embolia vaselor mari, prin vegetațiile micotice endocardice moi și friabile, ce se produc mai ales în arterele mari ale membrelor inferioare, cu durere subită, absența pulsului periferic, modificare de culoare și scăderea temperaturii locale a membrului respectiv. Se pot produce embolii și la arterele viscerelor (artere splenice, renale, intestinale) cu simptome de abdomen acut, cu durere abdominală subită, atroce, precum și ale arterelor cerebrale sau medulare, ce se manifestă prin cefalee, confuzie, hemiplegii, paraplegii sau tulburări sensitive. Durata bolii este de 3—4 luni, cu sfîrșit letal în sincopă cardiacă

Septicemiile cu Aspergillus sînt provocate mai ales de *A. fumigatus* și pot fi primare sau secundare, acestea din urmă fiind mai frecvent întîlnite, ca urmare a aplicării la unii bolnavi, cu boli generale cronice, progresive purtători de *Aspergillus*, a unor agenți terapeutici actuali (antibiotice, hormoni corticoizi, citostatice, raze Roentgen).

Focarul inițial septicemic, în cele primare, este, cel mai adesea, pulmonar, debutul fiind o pneumonie acută, subacută sau cronică. Perioada de diseminare se manifestă prin febră cu oscilații neregulate, frisoane, transpirații, stare generală alterată, spleno- și hepatomegalie, după care apare simptomatologia localizărilor organice multiple,plămînul, fiind de obicei organul localizărilor secundare hematogene, de tip miliar. Au fost citate și localizări secundare mai rare, în cerebel, în ganglionii mezenterici, localizări linguale, palatine etc.

Au fost descrise cazuri și cu alte porți de intrare și focare inițiale, de exemplu, poartă de intrare cardiovasculară sau oculară, cu focar endocardic și respectiv ocular sau osos (orbitar).

În septicemiile aspergilozice secundare, poarta de intrare este, cel mai adesea mucoasa respiratorie, iar focarul inițial septicemic este pulmonar. În asemenea cazuri, simptomatologia fazei de diseminare se intrică cu cea a bolii primare, iar apariția focarelor miliare pulmonare, atrage atenția asupra posibilității de generalizare a aspergilozei inițial pulmonară.

Diagnostic. Examenul direct al sputei, aspiratului bronșic, lichidului pleural și al puroiului (în forma pleurală), al dopului din conductul auditiv (în otomicoza aspergilozică), pun în evidență fragmente miceliene septate, spori, capete aspergilare (conidiofori cu columelă și fialide) ale ciupercii. De asemenea se pot face culturi pe mediile obișnuite (Sabouraud și Czapek), obținîndu-se în cîteva zile colonii caracteristice. În caz de aspergilom examenul radiologic evidențiază imagini aeriene, semilunare, ce acoperă masa intracavitară a ciupercii.

Prognostic. Este benign pentru otomicoza aspergilară, formele traheobronșice și aspergilom și grav pentru celelalte forme.

Tratament. În otomicoza aspergilară, se fac spălături ale conductului auditiv, extracția masei micotice cu pensa și aplicarea de antiseptice, cum ar fi apa oxigenată sau permanganatul de K 1—2‰. În celelalte forme, se obțin, uneori, rezultate bune prin administrare de preparate iodurate, nistatină și amphotericina B. În septicemii, asociația dintre nistatină și 2-hidroxistilbamidină pare a fi mai activă.

Profilaxie. Măsurile de profilaxie vor avea în vedere faptul că această ciupercă se găsește saprofită la om și păsări, iar sporii săi se pot găsi în praful de la prelucrarea cerealelor, în aerul din încăperile spitalelor și chiar pe cearceafurile de pe paturile de spital.

GENUL PENICILLIUM

Cuprinde ciuperci ce au un miceliu septat, abundent, iar conidioforii au niște formațiuni ramificate, sub formă de evantai, denumite *verticilii* pe care se află lanțurile de conidii, globuloase, întreaga fructificație avînd forma unei pensule, de unde și numele. Verticiliile sînt formate dintr-un singur rînd de prelungiri — *fialide* — (fialy = fiolă, flacon), sau din două rînduri — *metule* și *fialide* — (meta = după), metulele fiind tot celule alungite, așezate într-un singur rînd, care fac legătura între conidiofor și fialide (fig. 336). Speciile acestui gen mai pot da naștere și la *perithece*, în interiorul cărora se formează *asce* ovoide sau piriforme, ce închid 8 *ascospori* alungiți și cu cele două extremități ascuțite.

La identificarea speciilor de *Penicillium*, se mai au în vedere și unele caractere în legătură cu numărul verticiliilor unui filament (uni-, bi- sau polyverticilate), poziția acestora (ridicate în sus sau nu) și faptul dacă sînt simetrice sau asimetrice.

Rol patogen. Din cele aproximativ 600 specii, care duc o viață saprofită, numai în cazuri cu totul excepționale, unele pot deveni patogene, provocînd micoze viscerale, în special pulmonare, așa-numitele peniciloze. Speciile care pot provoca, cel mai frecvent, asemenea îmbolnăviri sînt : *P. notatum, P. crustaceum, P. camemberti, P. citrinum.*

Diagnostic. La examenul direct al produsului patologic (spută etc.), se observă fragmente din miceliul septat, de obicei incolore, din care pleacă conidiofori septați, despărțiți de hifele de bază printr-un sept, spre deosebire de *Aspergillus*, la care conidioforii nu sînt despărțiți prin septuri de celulele bazale de unde pleacă. Conidioforii pot fi ramificați și poartă așa-numitele verticilii. Sînt specii uni-, bi- sau multiverticilate, cu verticilii așezați simetric sau asimetric.

Culturi. Se pot face pe mediile obișnuite Sabouraud sau Czapek, la temperatura camerei, ***Penicillium*** dînd naștere, în 5—6 zile, la colonii rotunde, bine delimitate, cu suprafața de obicei uscată, pulverulentă. Culoarea diferă de la specie la specie; astfel, *P. bertai* dă colonii albe pufoase, cu conidiofori verzi-bruni; *P. minimum*, *P. giordanoi*, *P. crustaceum* dau colonii de culoare cenușie-verzuie sau verde-albăstrue; *P. bicolor* dă colonii verzi sau galbene spre roșu.

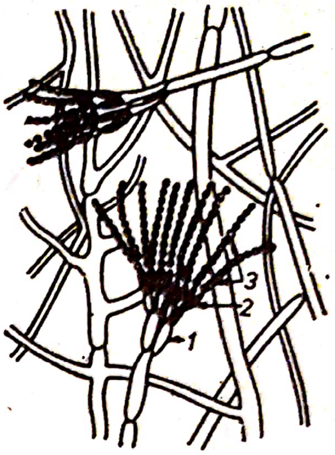


Fig. 336 : *Penicillium crustaceum* :

(1) porțiunea dinaintea ultimei bifurcații a hifei sporifere; (2) fialide purtînd conidii (3) (după *Langeron*, parțial, în Brumpt, 1949).

Inoculare la animale. Caracterul patogen al tulpinilor izolate din organism este greu de demonstrat, întrucît inoculările pe cale intraperitoneală, la șoareci sau cobai, dau rezultate inconstante și neconcludente.

Genul *Penicillium* prezintă un mare interes medical de la descoperirea penicilinei de către *Fleming*, în 1939, la *P. notatum*, această substanță fiind produsă și de *P. chrysogenum*. Alte specii, produc în culturi, diferite substanțe ca: acidul penicilic (produs de *P. suaveolens*, *P. cyclopium*, *P. puberulum*, *P. thomii*), citrinină sau notatină (produs de *P. citrinum*), claviformina (produs de *P. claviforme*) și altele.

LIX. CLASA BASIDIOMYCETES

Cuprinde ciuperci cu miceliul alcătuit din filamente septate, așezate sub formă de cordoane și care, prezintă, în loc de *asce*, niște formații denumite *basidii* ce vor da naștere la spori externi, denumiți *basidiospori*.

Basidia este la început, ca și *asca*, o celulă cu un nucleu, care, ulterior, va suferi în general 2 diviziuni succesive, dînd naștere la 4 nuclei-fii, după care, *basidia* va dezvolta în afară, 4 *sterigme* (prelungiri) prin canalul cărora vor emigra acești nuclei antrenînd și o cantitate mică de citoplasmă, formînd astfel 4 *basidiospori*. În unele cazuri, nucleul primitiv se poate diviza în 6 sau 8 nuclei-fii din care se vor forma 6—8 *basidiospori* (fig. 337).

La unele specii, pot exista în plus, *conidii* sferice sau falciforme și *chlamidospori*.

În acest grup important sînt clasate aproape toate ciupercile comestibile sau veninoase precum și ordinul *Ustilaginales* care atacă diferite vegetale. *Ustilaginalele* care prezintă basidii septate sau nu, avînd și o fază levuriformă sînt paraziți obligatorii. O singură specie a fost găsită la om, *Ustilago zeae*, care, într-un caz studiat în Statele Unite de către Preininger, în 1938 (citat de Brumpt), a determinat o dermatită și într-un al doilea caz, publicat de R. Moore, W. D. Russell și E. Sachs (citați de Brumpt), ar fi determinat o leptomeningită cronică și o ependimită la un subiect care, înaintea morții sale, a suferit o laparotomie și, mai tîrziu, o trepanație.

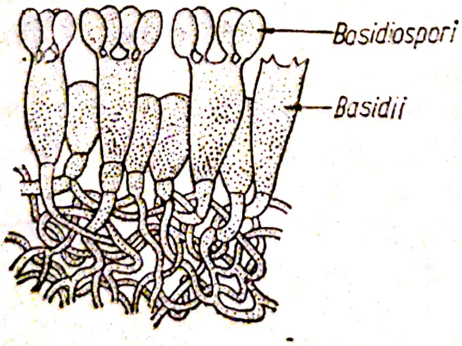


Fig. 337 : Basidii și basidiospori
(schemă după *Zarnea*, 1970).

LX. CLASA FUNGI IMPERFECTI

Sinonimie. *Deuteromycetes, Adelomycetes.*

Cuprinde ciuperci la care se cunosc numai formele imperfecte de înmulțire (formele asexuate), unele din ele neavîndu-le nici pe acestea, ci numai un miceliu steril. Această clasă este o grupare provizorie în care se încadrează ciupercile cărora le lipsesc, sau nu li se cunosc, stadiile perfecte de dezvoltare, reprezentate prin organe de înmulțire sexuată. Este o grupare ,,de așteptare'' în care ciupercile sînt menținute numai atîta timp cît nu li se cunoaște posibilitatea de a produce și spori perfecți, iar pe măsură ce se descoperă la unele specii formele sexuate de înmulțire (formele perfecte), asce sau basidii, urmează trecerea lor la gruparea respectivă — *Ascomycetes* sau *Basidiomycetes* — și schimbarea denumirii lor.

Această clasă cuprinde 3 ordine : *Moniliales* (*Hyphomycetales*), *Melanconiales* și *Sphaeropsidales*, din care numai primul ordin interesează medicina.

ORDINUL MONILIALES (HYPHOMYCETALES)

Cuprinde ciuperci care prezintă conidii ce se găsesc, fie pe conidiofori grupați în coremii (fascicule), fie libere pe filamente, caz în care acestea iau naștere într-un receptacul sau stromă conidiferă deschisă, numită *sporodochium*, (sporos = sămînță ; docheion-receptacul), analoagă *apotheciei*, dar de care diferă prin faptul că nu dă naștere, niciodată, la asce. Din acest ordin, numai patru, din numeroasele sale familii, includ ciuperci ce interesează medicina : *Cryptococcaceae*, *Moniliaceae*, *Dematiaceae*, *Tuberculariaceae*.

FAMILIA CRYPTOCOCCACEAE

Include ciuperci levuriforme ce formează pseudomicelii și arthrospori. Dintre acestea interesează medicina genurile : *Cryptococcus*, *Candida*, *Mallassezia* și altele.

GENUL CRYPTOCOCCUS

Specii ale acestui gen au fost depistate ca saprofite pe tegumente și mucoase la om, precum și în fecale la persoane fără tulburări digestive. De asemenea s-au mai izolat și din spută. Dintre speciile patogene la om se va descrie *Cryptococcus neoformans*.

CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS

Sinonimie. *Torula histolytica*, *Torulopsis neoformans*.

Morfologie. Se prezintă, în viața parazitară, sub formă de celule rotunde înmugurite, de 5—20 microni, înconjurate de o pătură groasă de substanță gelatinoasă, pe care acestea o secretă și care dă formațiunilor asemănătoare tumorilor, pe care le formează, o consistență particulară (fig. 338).

Culturi. Se poate cultiva pe medii uzuale (agar-sînge, agar-glucoză, bulion sau Sabouraud), atît la temperatura camerei, cît și la +37°C, obținîndu-se colonii de culoare alb-gălbuie sau brună, cu suprafața convexă, rugoasă, de consistență ceroasă sau mucoidă. Coloniile conțin la început, celule fără capsulă; aceasta apare ulterior, ajungînd la o grosime ce poate depăși diametrul celular propriu-zis. Prezența capsulei, absența pseudomiceliilor și a ascosporilor, proprietățile de asimilare a zaharurilor și acțiunea sa patogenă la șoarecele alb, diferențiază această specie de celelalte specii nepatogene.

Inocularea la șoarecele alb se face intraperitoneal, provocîndu-i acestuia, după 2—4 săptămîni, leziuni mezenterice sub forma unor mase gelatinoase și hipertrofia accentuată a ganglionilor regionali.

Rol patogen. Afectează pulmonul și sistemul nervos central (fie primar, fie secundar), cu o frecvență variabilă, iar uneori sîngele (fungemii). Manifestările nervoase primare pot îmbrăca aspectul clinic de meningită, encefalită, meningoencefalită (cel mai frecvent) și granulom solitar.

Simptome. În criptococcoza pulmonară, simptomele sînt ca la o pneumopatie subacută (febră, durere toracică, tuse, cefalee, pierdere în greutate, spută mucoidă, uneori hemoptoică). La pulmon se constată leziuni parenchimatoase infiltrative sau nodulare uni- sau bilaterale, diseminate de obicei în jumătatea superioară a pulmonilor.

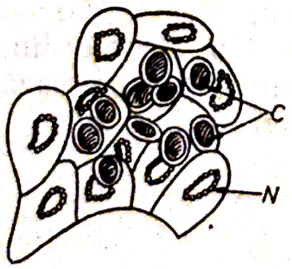


Fig. 338: *Cryptococcus degenerans* în epiteliul unui chist de adenocarcinom:

(C) parazitul; (N) nucleul celular (după Roncali, în Brumpt, 1949).

În meningoencefalită, simptomele sînt diferite, după cum afecțiunea îmbracă aspectul acut, subacut sau cronic. Astfel, în forma acută, debutul este brusc, cu febră, frison, cefalee violentă, atroce, vărsături, cu stare de depresiune sau iritabilitate, obnubilare, stare confuzională, delir, paralizii de nervi cranieni. Starea generală se înrăutățește repede, sfîrșitul fiind letal, în 8—12 zile. În forma subacută, debutul este lent, temperatura ușor crescută, cu cefalee intermitentă, la începutul bolii, apoi continuă și crescînd în intensitate.

Treptat apar și alte simptome : fotofobie, redoare a cefei, semnul Kernig, vărsături, somnolență, apatie, urmate de semnele localizării în encefal : ambliopie, nistagmus, strabism, diplopie, oftalmoplegie, pierderea reflexelor pupilare la lumină, precum și de tulburările psihice : depresiune, indiferență, dezorientare, delir, tulburări de somn, stare de excitație, convulsii, paralizii, ataxie, comă, urmată de exitus. În forma cronică, debutul este insidios, cu cefalee intermitentă cu localizare frontală și temporală, cu febră moderată sau fără febră, simptome urmate apoi de fotofobie, vărsături, contracturi musculare, tulburări ce pot fi întrerupte de perioade asimptomatice. Semnele localizării encefalitice apar mai tîrziu, urmate de semne de blocaj și hipertensiune intracraniană : cefalee atroce, vărsături incoercibile, precum și de tulburări psihice : depresiune, irascibilitate, confuzie, obnubilare, tulburări care cresc în intensitate. Boala poate evolua luni sau chiar ani, cu tulburări din ce în ce mai grave, iar moartea se produce prin cașexie.

Granulomul criptococcic este de obicei solitar în encefal, în orice regiune, de mărime variabilă, avînd același mod de producere și aceleași simptome clinice ca și tuberculomul.

Septicemiile cu *Cryptococcus neoformans* se întîlnesc sub două forme : forma primară, întîlnită foarte rar, ce apare în urma inhalării ciupercii la persoane fără boli cronice și forma diseminată secundar, ce apare la persoane cu boli cronice de sistem reticuloendotelial (leucemii, limfogranulomatoză malignă), sau la cei cu rezistență scăzută prin boli cronice progresive (neoplasme, ciroză etc.).

Simptomatologia formei diseminate primare este la început cea a unei pneumonii acute, subacute sau cronice, după care, fie în continuarea simptomatologiei pulmonare, fie mai tîrziu — după o perioadă de ameliorare — starea generală se alterează și apare febră oscilantă, frisoane, transpirație, splenomegalie, anemie progresivă.

Localizările secundare se produc de obicei în sistemul nervos central, cu simptome de meningoencefalită gravă.

Evoluția ambelor forme este în general letală.

Diagnostic. Se face prin examinarea sputei, a l.c.r., însămînțare pe medii cu sînge, glucoză, bulion, depistîndu-se ciuperca, sub forma ei caracteristică, de celule rotunde încapsulate. De asemenea, se poate testa efectul patogen al ciupercii, prin inoculare intraperitoneală, la șoarecele alb, la care se constată — după 2—4 săptămîni — leziuni mezenterice, sub forma unor mase gelatinoase și hipertrofia accentuată a ganglionilor regionali.

La examenul radiologic, în forma pulmonară, pot apărea leziuni nodulare sau infiltrative, izolate sau grupate, rareori asociate cu adenopatie hilară sau mediastinală, leziuni cavitare, densificări pulmonare, îngroșări pleurale, pleurezii.

În formele meningoencefalitice, l.c.r. este hipertensiv, clar sau xantocromic, cu reacția Pandy pozitivă, cu albuminele crescute, cu 200—800 elemente celulare/ml.

Diagnosticul diferențial se face, în formele pulmonare, cu tuberculoza pulmonară, cu tumorile pulmonare și cu alte afecțiuni fungice. În celelalte forme, cu meningitele virotice sau cu encefalitele virotice, cu meningoencefalitele bacteriene grave, cu meningoencefalitele tuberculoasă, bruceloasă sau leptospirotică, cu abcese sau tumori cerebrale, cu septicemiile bacteriene și micotice.

Tratament. În criptococcoza pulmonară se poate administra preparate de sulfadiazină, timp de 2—3 luni, realizîndu-se o concentrare sanguină de 8—12 mg%. De asemenea, penicilina dă uneori rezultate precum și amphotericina B, pe cale intravenoasă, asociată cu gamaglobulină. În unele cazuri cu leziuni pulmonare localizate, se intervine chirurgical, sub tratament antifungic (amphotericina B). În celelalte forme, se face tratament antifungic cu amphotericină B, pe cale intravenoasă și intrarahidiană, asociat cu tratamente antiinflamatoare și antisclerogene cu hormoni corticoizi pe cale generală și intrarahidiană, precum și un tratament de susținere cu vitamine, gamaglobuline și alimentație completă. În granulomul criptococcic se poate interveni și chirurgical, sub protecție de amphotericină B. O asemenea intervenție este necesară și în septicemii, pentru focarele osoase și articulare.

GENUL CANDIDA

Sinonimie. *Actonia*, *Castellania*, *Monilia*, *Mycotorula*, *Zymonema* etc.

În genul *Candida* sînt cuprinse ciupercile levuriforme anascosporate care, în medii favorabile, dezvoltă un aparat sporifer filamentos format din verticilii și blastospori așezați cap la cap, formînd pseudofilamente. Sînt în general saprofite, cu excepția grupului *C. albicans* (*C. albicans*, *C. triadis*, *C. stellatoidea*), singurul exclusiv parazit sau comensal la om, mamifere și chiar păsări. Specia tip este *C. albicans*.

CANDIDA ALBICANS

Sinonimie. *Oidium albicans*, *Syringospora robini*, *Saccharomyces albicans*, *Monilia albicans*.

Morfologie. Pe preparate microscopice, ciuperca se prezintă sub formă de filamente cilindrice simple sau ramificate de 3—5 microni grosime și de 50—600 microni lungime, alcătuite din celule așezate cap la cap. Între filamente sau la extremitatea unora din ele, se observă chlamidosporii caracteristici grupului *C. albicans*, sub formă de celule sferice sau ovoide, de 5—7 microni diametru, ce sînt foarte refringente (fig. 339).

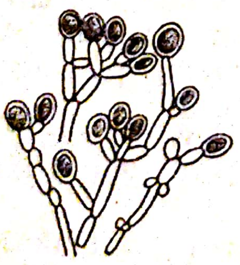


Fig. 339: Chlamidospori de *Candida albicans* (după *Langeron* și *Talice*, în Brumpt, 1949)

Culturi. Se pot obține pe geloză glucozată Sabouraud, cu adăugire de antibiotice antibacteriene, la 25°—30°C, colonii albe levuriforme de *Candida*, după 24—48 ore. Identificarea nu este însă posibilă, numai sub această formă de levuri, ciupercile aparținînd acestui gen fiind caracterizate prin filamentație și producere de blastospori, forme ce se pot obține, fie pe cultură veche în mediul Sabouraud, fie prin repicaj pe mediul PCB (mediu alcătuit din cartof, morcov, bilă), la temperatura camerei sau la 27°C. După 24—48 ore, prelevîndu-se un fragment din cultură, din zonele filamentoase, ușor în profunzimea mediului și strivit între lamă și lamelă, se va putea observa, la microscopul luminat slab, *chlamidosporii*, sub formă de spori terminali sau laterali.

Un nou procedeu de identificare a *C. albicans* — filamentația în ser — este bazat pe germinația rapidă a levurilor și formarea de filamente în serul uman sau animal la 37°C (0,5 ml ser + cîteva picături de suspensie de levuri). Cu acest procedeu, din toate speciile de *Candida*, numai *C. albicans* și specia sa vecină *C. stellatoidea* filamentează în 4 ore. Dacă levurile izolate nu dau chlamidospori, se utilizează alte teste pentru identificarea altor specii de *Candida* cum ar fi: fermentația zaharurilor (cu rezultate după 2 zile), sensibilitatea la actidionă (mediul Sabouraud + actidionă 0,05%), reducerea tetrazolium-ului (mediul Sabouraud + 0,1‰ tetrazolium), cu rezultate la aceste ultime două teste după 24—48 ore.

Rol patogen. Ciupercile acestui grup, dar mai ales *C. albicans*, pot provoca candidoze cutaneo-mucoase și viscerale sau generalizate, fiind vorba însă, de cele mai multe ori, de sușe autohtone saprofite devenite patogene sub influența diverșilor factori: transpirație, modificarea echilibrului florei microbiene fiziologice, afecțiuni cronice debilitante, diabet, antibioterapia și corticoterapia îndelungate, avitaminozele, iradierile, alcoolismul etc.

Dintre *candidozele cutaneo-mucoase* cităm: *intertrigo*, cu localizare la nivelul pliurilor mari, dar mai ales la picior și la mînă, ce se manifestă prin eritem pruriginos, urmat de decolare epidermică, secreție și depozit albicios cu fisurarea pliului; *dermita eczematiformă*, ce se prezintă ca un placard eczematoid, cu aspect policiclic și cu activitate crescută la periferie, întîlnit la nivelul pliurilor, pe dosul picioarelor și pe gambe; *stomatita*, întîlnită mai frecvent la vîrstele înaintate, mucoasa bucală fiind roșie și uscată, cu mici depozite albicioase, de aspect cremos, izolate sau confluente, bolnavul avînd senzație de arsură (glosopiroză); *muguet*-ul, întîlnit mai ales la sugarii atrepsici, debilitați prin tulburări digestive, dar și la copiii sănătoși, cu aspect de depozit alb-cremos, difuz, pe suprafața limbii și a mucoasei obrajilor, detașarea depozitului producînd sîngerarea mucoasei: *zăbăluța* (*perleșul*), ce se prezintă ca o fisură superficială a comisurii labiale, acoperită de un exudat albicios, întîlnindu-se mai ales la copiii cu stomatită și la vîrstnicii edentați sau cu proteze; *cheilitele*, ce sînt inflamații ale buzelor, coexistînd de obicei cu o stomatită; *balanite* și *balanopostite*, ce apar de obicei la diabetici, manifestate prin roșeața glandului și a prepuțului, acoperită apoi de pustule și sfîrșind printr-o suprafață erodată zemuindă, cu un depozit alb-cremos, foarte pruriginoasă; *vulvovaginita candidozică*, care se manifestă prin prurit, leucoree cremoasă sau grunjoasă, cu o mucoasă roșie erodată sau acoperită cu un depozit albicios, afecțiunea putîndu-se extinde și la pliurile inghino-vulvare, perineu și pubis; *onixis* și *perionixis*, ce sînt cele mai frecvente dintre manifestările cutanate ale candidozelor, debutează, cel mai adesea, printr-un perionixis inflamator, unghia fiind secundar invadată (mai rar primitiv), apărînd sub formă de pete albe sau gălbui sub placa externă, provocînd apoi ridicarea acesteia prin hiperkeratoza subunghială, întîlnindu-se mai ales la femei și la diabetici; *granulomul candidozic*, afecțiune gravă, mai rar întîlnită, în prima sau a doua copilărie, apare ca mici noduli dermici inflamatori, de obicei pe față și pielea capului, avînd tendința de ulcerare și extindere, formînd plaje papilomatoase zemuinde, net delimitate, iar uneori, nodulii se acoperă de cruste cornoase.

În ceea ce privește *candidozele viscerale* sau *generalizate*, menționăm: *candidoza traheobronhială*, care este datorată, de cele mai multe ori, propagării unui muguet bucal la faringe, laringe și bronhii, ce se manifestă prin tuse tenace, mai ales în timpul nopții, expectorație mucoidă sau gelatinoasă ce conține grăunțe mici de culoare cenușie formate din elemente levurice și resturi celulare, bolnavii fiind afebrili iar uneori subfebrili, iar evoluția bolii fiind cronică, cu perioade de agravare și de ameliorare, vindecîndu-se uneori spontan; *candidoza pulmonară*, mai gravă decît candidoza traheobronhială, însă întîlnită mai rar și care se manifestă prin tuse, uneori febră și junghi, spută adesea sanghinolentă, evoluînd de obicei spre vindecare, în afară de formele grave, cînd sînt cuprinși mai mulți lobi, caz în care evoluiază spre exitus; *candidoze ale tubului digestiv*, declanșate de obicei în urma propagării unui muguet bucal pe traiectul *esofagului*, pînă la cardia, cu formarea unor depozite albicioase sau alb-gălbui, pe toată suprafața sau numai către partea terminală a acestui organ; uneori, boala se propagă și în *intestin*, provocînd enterocolite, cum este *diareea tropicală*, denumită încă și „*sprue*”, deși nu întotdeauna se poate face dovada etiologiei candidozice, mai ales că din scaune se poate izola *Candida*, chiar și la oamenii normali; *candidoze ale celorlalte organe interne*, ce rezultă prin propagarea ciupercii pe cale hematogenă; astfel în cursul candidozelor septicemice, pot apărea leziuni ale *rinichiului*, sub formă de microabcese, *pielonefrite, cistite, uretrite* (mai ales la diabetici), *candidoze ale inimii*, cu localizare mai ales pe *endocard* și a căror simptome, evoluție și gravitate sînt similare cu cele din endocardita lentă (boala Jaccoud-Osler), iar uneori poate fi invadat și *pericardul*; *candidoze ale sistemului nervos central*, ce se instalează de obicei în cursul unor boli grave sau ca niște complicații ale unei septicemii candidozice și care se manifestă ca o meningoencefalită cu- sau fără febră, ca o meningită tuberculoasă sau ca o tumoră cerebrală; *septicemii cu Candida*, extrem de rar întîlnite, fie la sugarii debili, fie la bătrînii cașectici, dar și la adulți, apărînd de obicei în cursul unei terapii intensive cu antibiotice.

Alte manifestări sînt cele *alergice la Candida*, denumite în general *levuride*, ce apar uneori la distanță de focarul micotic și sînt, fie localizate (brațe, antebrațe, mîini, fese, coapse, gambe), fie generalizate, îmbrăcînd diferite aspecte, de la mici eflorescențe roșii, pînă la aspectul parakeratozic sau eczematos și chiar papulos-lichenoid. De asemenea, se mai pot adăuga și manifestările de *sensibilizare față de Candida*, care interesează atît pielea (erupții eritematoase), cît și unele organe (astm).

Diagnostic. Se face prin depistarea elementelor fungice în produsele patologice: în candidozele cutaneomucoase, scuame, raclate mai ales de la periferia leziunii; în onyxis, scuame și puroi de la nivelul marginii laterale și de la baza unghiei, precum și din țesutul periunghial; în cazul leziunilor ce se preling sau cele ale mucoaselor, cu ajutorul unui tampon steril, umezit în puțină apă fiziologică; de pe limbă cu ajutorul unei lame de sticlă; în candidozele viscerale, puroi, expectorație, lichid pleural, sediment urinar, materii fecale, lichid cefalorahidian, biopsii operatorii sau necropsii etc. Aceste produse se examinează microscopic, fie pe preparate directe, în stare proaspătă, între lamă și lamelă (în caz de scuame și resturi de unghii, adăugîndu-se și cîteva picături din soluția 40% de potasă caustică), fie pe frotiuri colorate cu Gram, Giemsa sau albastru de metilen, executate din puroi, expectorație, lichid cefalorahidian, lichid pleural, sediment urinar etc., iar în cazul prelevatelor prin biopsie sau necropsie se fac preparate histologice colorate cu hemalaun și prin metoda Hotchkiss-Mac Manus.

La microscop se observă — așa cum s-a arătat la capitolul morfologie — levuri sferice sau ovoide de 3—5 microni, înmugurite, cu pereții subțiri, însoțite sau nu de filamente miceliene cilindrice, simple sau ramificate de 3—5 microni grosime și 50—600 microni lungime, formate din fragmente, de lungimi variabile, cuprinse între 3—5 microni, cu extremitățile rotunjite.

Prezența levurilor de tipul *Candida*, la examenul direct, trebuie să fie urmat de izolarea și identificarea acestora, așa cum s-a descris la capitolul culturi. Tot în sprijinul diagnosticului se poate face inoculare intravenoasă la iepure, șobolan sau șoarece, la care toate sușele de Candida albicans, le provoacă moartea în 3—7 zile, precedată de paralizia trenului posterior, iar la necropsie se constată pulmoni foarte congestionați, rinichi hipertrofiați ce prezintă adesea microabcese și meningele congestionat.

Reacții imunologice. Prin tehnica de imunodifuziune în geloză și analiza imunoelectroforetică, prezența de precipitine serice a fost demonstrată la bolnavii de candidoză, însă titrul anticorpilor precipitanți este foarte slab, necesitînd o concentrație mare de ser. Testul de sensibilitate cutanată la extractul de *C. albicans* este pozitiv la peste 60% din populația adultă (proporția crescînd progresiv de la vîrsta de 1 an), datorită faptului că această ciupercă se află pe mucoasele a numeroși subiecți sănătoși și deci nu are valoare diagnostică. La cei cu manifestări alergice la *C. albicans* (eczemă, astm, urticarie etc.) însă, intradermoreacția are valoare dacă reacția locală (papulă depășind 7 mm) este însoțită de o reacție focală.

Tratament. În candidoze se poate aplica un tratament preventiv, prin măsuri de igienă a pliurilor și aplicare de pudre și soluții antimicotice, igiena cavității bucale și a mucoaselor prepuțială și vaginală, eventual spălături cu soluții slabe antifungice; de asemenea se va limita recomandarea de antibiotice sau se va administra concomitent antifungice anticandidozice (stamicină, saprosan etc.). Tratamentul curativ este diferit după forma clinică a acestei micoze. Astfel, în *intertrigo*, se vor face badijonări zilnice cu soluție de fenosept diluată 1/3—1/5, iar seara se poate aplica unguent saprosan sau soluție de buclosamid P; în *dermoepidermitele gambelor*, se aplică întîi prișnițe cu soluții antifungice (acid boric 2%), după care se va aplica o pastă cu apă în care s-a inclus și stamicină 100 000 U/g de excipient, iar mai tîrziu pomezi cu stamicină plus neomicină 3% și hidrocortizon 1—2%; *stomatitele* se tratează prin badijonări cu glicerină boraxată 5—10% cu adăugire de stamicină pulbere 100 000 U/g, sau i se va prescrie stamicină drageuri pe care le va suge (2—3 drajeuri pe zi, timp de 7—10 zile); *zăbăluța* (perleșul, angulus infectiosus oris), se tratează prin aplicare de pomadă cu stamicină 100 000 U/g de excipient, asociată sau nu cu neomicină și hidrocortizon, ca la intertrigo, iar în cazurile rebele, atingeri cu nitrat de argint, soluție 1—2%, din 2 în 2 zile, de cîteva ori, după care se va aplica pomadă cu stamicin sau saprosan, de cîteva ori pe zi; *balanitele* și *balanopostitele* se vor trata cu băi călduțe cu o soluție slabă de kaliu permanganic, apoi badijonare cu soluție de fenosept, diluată 1/3—1/5, după care se va aplica *pastă cu apă* în care s-a adăugat stamicină; în *vulvovaginite*, se vor face irigații cu soluție slabă de kaliu permanganic, iar seara, la culcare, se va introduce, cîte un ovul cu stamicin (500 000 U/ovul), timp de 10—15 zile; *granulomul candidozic* se va trata, atît local, prin aplicare de comprese umede cu soluție de resorcină 1%, ca decapant, după care se pun topice cu stamicină, cît și general, cu stamicină 12—20 drajeuri (6 mil.—10 mil. U) în 24 ore; în *onicomicoza candidozică*, se vor face băi prelungite, zilnic, sau la 2 zile, cu o soluție slabă de permanganat de kaliu, după care se va badijona cu o soluție alcoolică saliciliodată 1—2%, urmînd apoi aplicarea unei pomezi saprosan T sau buclosamid (jadit); în *perionixisul candidozic*, înaintea unei noi aplicări de medicamente, se va face o curățire mecanică a țesuturilor cornoase parazitate, pînă se ajunge la un strat de unghie sănătoasă (cu foarfecele, pila, raclare cu ciob de sticlă etc.); în *candidozele viscerale* și în *septicemiile candidozice*, tratamentul urmărește, atît ameliorarea bolii de bază, care acidifică organismul (diabet, azotemie etc.), oprirea administrării de antibiotice și a cortizonului și administrare de bicarbonat de sodiu, general, în scopul alcalinizării, cît și combaterea micozei, prin administrare de amphotericină B, intravenos (perfuzii), începîndu-se cu doza de 0,25 mg/kilocorp și crescînd progresiv pînă la 1,5 mg/kilocorp; tratamentul poate dura luni de zile și se face sub controlul funcțiilor renală și hematopoietică, întrucît este foarte toxic, dar și cel mai activ antifungic; acest medicament se poate aplica și local, sub formă de instilații, în leziunile bronșice și intrapleurale (pleurezii micotice).

GENUL MALASSEZIA

Cuprinde ciuperci cu filamente miceliene cilindrice, septate, cu extremitățile ramificate în forma literei T și înmugurite, iar pe ramurile filamentelor, uneori și pe articole izolate, prezintă *conidii* solitare sau în ciorchine, de formă rotundă sau ovoidă, cu suprafața netedă sau cu striuri longitudinale. Specia tip este *M. furfur*.

MALASSEZIA FURFUR

Sinonimie. *Microsporon furfur*, *Sporotrichum furfur* etc.

Morfologie. Se prezintă sub cele două forme: de *filamente scurte și groase*, de 3—4 microni diametru și 20—40 microni lungime, totdeauna fragmentate, curbe sau în linie frîntă și de *celule rotunjite*, de 3—8 microni diametru, cu pereții groși, grupate în grămezi, cîteodată înmugurite. Caracterul morfologic esențial la *Malassezia furfur*, față de formele filamentoase și sporulate ale ciupercilor care parazitează părul, este tocmai această opoziție, foarte marcată, între filamente, pe de o parte și sporii rotunjiți, pe de altă parte; în timp ce la ciupercile provocatoare ale pilomicozelor, există toate formele intermediare între filamente și spori (fig. 340).

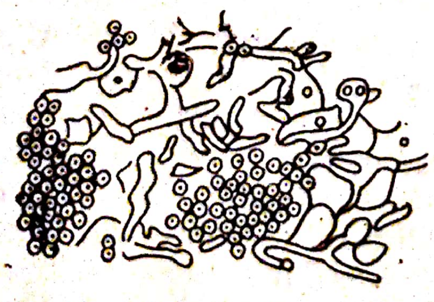


Fig. 340: *Malassezia furfur* într-o scuamă de pityriasis versicolor (după C. Fox, parțial, în Brumpt, 1949).

Culturi. Problema cultivării acestei ciuperci este încă nerezolvată. S-a încercat să se cultive pe mediul gelozat al lui Sabouraud, la care s-a adăugat după depunerea scuamelor, 1—2 cm^3 de ulei de măsline, însă nu s-a obținut *Malassezia furfur* ci *Pityrosporum orbicolare* (Golvan și Drouhet). Pe gelatină sau bulion dezvoltarea sa este lentă, cu formare de tufe mici, floconoase și translucide, care, după Kambayashi (citat de Brumpt), ar avea o morfologie asemănătoare cu aceea a ciupercilor din genul *Sporotrichum*. Încercîndu-se a se infecta experimental animale, s-a constatat oarecare sensibilitate la iepure.

Rol patogen. Provoacă o micoză a pielii glabre numită *pityriasis versicolor*, care se manifestă prin apariția unor pete rotunde, bine limitate, ce pot conflua, de culoare variabilă după topografie sau timp, de la galben deschis la brun închis. Petele nu depășesc în înălțime nivelul pielii sănătoase, sînt netede sau scuamoase și variază ca mărime, de la un cap de ac de gămălie pînă la aceea a unei monede, putînd ajunge la plăci confluente, observîndu-se uneori, toate mărimile la același individ. Leziunea pare să debuteze împrejurul unui orificiu folicular, filamentele miceliene străbătînd în pătura cornoasă a epidermului, provocînd decolarea lui, încît este posibilă desprinderea cu unghia a unui lambou de epiderm, fără a provoca sîngerare, acesta fiind un semn patognomonic în această micoză, descuamația furfuracee (furfur = tărîțe). Ciuperca se dezvoltă mai ales la partea superioară a toracelui și se poate extinde la axile, flancuri, umeri, uneori brațe sau abdomen, pliuri inghinale și excepțional gambe; mîinile și picioarele sînt totdeauna indemne, iar la față, cu totul excepțional.

Pityriasis versicolor este o epidermomicoză de obicei asimptomatică, nu se manifestă aproape niciodată cu prurit, nu este contagioasă și este favorizată de transpirație și de lipsa de spălare a pielii. Aspectul acestei micoze poate să varieze, mai ales la bolnavii din regiunile tropicale, putîndu-se observa leziuni de tip papulovezicular, diseminate, de mărimea unui cap de ac de gămălie, precum și un tip achromiant mai pronunțat. Boala are o durată destul de lungă dacă nu este tratată.

Diagnostic. Se face prin depistarea ciupercii, pe preparate microscopice, executate din scuame, clarificate cu hidroxid de potasiu 40%, unde se vor găsi spori și filamente scurte caracteristice. Diagnosticul diferențial se face cu *pityriasis*-ul provocat de fungii dermatosporați (*Trichophyton*, *Sabouraudites* etc.); de exemplu, într-un *pityriasis favic*, dacă se ridică scuamele se pot observa godeuri mici de circa 1 mm diametru; cu *eritrasma*, în care la examenul microscopic, se observă filamente miceliene extrem de subțiri, arthrosporate, de *Nocardia minutissima*; cu sifilisul secundar; cu unele achromii parazitare, provocate de ciuperci din genul *Cladosporium* și cu afecțiunile neparazitare: *chloasma*, *dermatita seboreică* sau *vitiligo*.

Stabilirea diagnosticului de *pityriasis versicolor* se poate face și numai prin *semnul unghiei* (ridicarea cu unghia a unui lambou de epiderm, fără a provoca sîngerare).

Tratament. Se face folosindu-se substanțe decapante (iod, sulf, acid salicilic, acid benzoic, acid lactic etc.). În caz de leziuni superficiale, badijonare cu alcool iodat 1—2%, de două ori pe zi, timp de cîteva zile, uneori și mai mult. La alcoolul iodat se poate încorpora și acidul salicilic, în aceleași proporții. În caz de nereușită, se poate aplica pomada Whitefield-Doubreuilh, cu acid salicilic și acid benzoic 3—5%, ungîndu-se focarele seara, mai ales marginile leziunii. O acțiune bună o au și unii coloranți (albastrul de methylen, violetul de gențiana, fuchsina), folosiți în soluții alcoolice sau hidroalcoolice de 1—2%.

FAMILIA MONILIACEAE

Cuprinde ciuperci a căror filamente miceliene, conidiofori și conidii sînt de culoare palidă. Dintre genurile incluse în această familie, *Trichophyton*, *Microsporum*, *Sporotrichum*, *Histoplasma* și altele interesează medicina, întrucît unele specii sînt parazite la om.

GENUL TRICHOPHYTON

Se caracterizează printr-un miceliu subțire, adesea fragil, prin *microconidii* (*aleurii*) rotunjite, purtate de un aparat aleurian simplu de tip *Acladium* (*aleurii* dispuse în spic) (**a** = fără ; clados = ramură) puțin dezvoltat și *macroconidii* (*fusuri*) trunchiate (în formă de fuior sau caier), cu pedicul gros, puțin numeroase sau chiar absente. Parazitul este conținut, în unele cazuri, în interiorul firelor de păr, situație în care este considerat ca *T. endotrix*; în alte cazuri, elementele parazitare sînt grupate la periferia părului și la baza sa formînd un manșon gros, situație în care este considerat ca *T. ectotrix*, însă, cum de obicei există în mod egal asemenea elemente parazitare în firele de păr, parazitul se poate denumi *T. endo-ectotrix*, această morfologie fiind stabilită de vechea clasificație a ciupercilor acestui gen după aspectul acestora în firele de păr parazitate.

Dintre speciile ce se întîlnesc la noi în țară menționăm : *T. violaceum* (întîlnită de cele mai multe ori), urmată de *T. cerebriforme* (*T. flavum*), *T. faviforme*, *T. niveum*, *T. gypseum*, *T. schönleini* (fostul gen *Achorion* din clasificarea veche a lui Sabouraud, 1910).

TRICHOPHYTON VIOLACEUM

Sinonimie. *Bodinia violaceea.*

Morfologie. La examenul microscopic al materialului patologic se observă filamente miceliene, mai adesea în leziunile trichofitice ale epidermului decît în păr, constituite din celule cilindrice lungi, așezate cap la cap și separate prin pereți transversali și filamente fragmentate, constituite din arthrospori, de formă rotundă, ovală sau cubică, cu un înveliș celulozic gros, cu dublu contur, dispuși în lanțuri paralele cu firul de păr, ocupîndu-i complet interiorul, motiv pentru care firul de păr parazitat a fost asemănat cu un sac plin cu nuci (fig. 341). Datorită acestei parazitări intense, firul de păr devine sfărîmicios, rupîndu-se spontan, iar fragmentul rămas se încovoaie în grosimea scuamelor sau chiar în foliculul pilos.

Culturi. Se obțin culturi, în 8—10 zile, pe mediul de încercare Sabouraud, pe mediul Pollacci sau pe medii naturale, cu aspect neted, lucios, de culoare violet închis, virînd uneori spre roșu sau albastru-negricios, datorită apariției unui pigment (de unde și numele de specie). Pigmentarea se face de la centru spre periferie și variază ca intensitate chiar în același tub, putîndu-se observa colonii intens colorate alături de colonii nepigmentate. Fragmente din cultură observate la microscop, prezintă filamente miceliene subțiri, septate, cu unele dintre celule mărite de volum (așa-numiții chlamidospori) și rareori aleurii.

Inocularea la animale de laborator (cobai, cîine, pisică), reușește numai în puține cazuri.

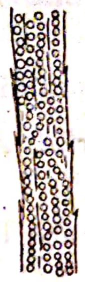


Fig. 341. Păr de om invadat de un *Trichophyton endotrix*.

Se observă în diverse puncte cum filamentele miceliene ridică cuticula părului (schemă după *Sabouraud*, în Brumpt, 1949).

TRICHOPHYTON CEREBRIFORME

Sinonimie. *Trichophyton flavum.*

Morfologie. Elementele parazitare au aceeași dispoziție în perii din pielea capului ca și *T. violaceum*; în alte regiuni păroase perii sînt însă mai lent invadați, încît a fost considerat la început, de către Sabouraud, ca făcînd parte din grupul *T. neoendotrix*, iar ulterior incluzîndu-l în grupul *T. endotrix* *T. cerebriforme* este cea de a doua specie, în ordinea frecvenței, întîlnită la noi în țară, ca agent patogen al trichofițiilor uscate și al sicozisului parazitar al bărbii.

Culturi. Se dezvoltă repede dînd colonii de culoare galbenă, (de unde și numele de specie *T. flavum*), avînd suprafața plisată, asemănătoare cu circumvoluțiile creierului (de unde și numele celălalt de specie *T. cerebriforme*). Coloniile au aspect prăfos, aproape gipsos, dar cu granulații mai fine ca acelea de *T. gypseum*, iar unele prezintă, la periferia lor, mănunchiuri de raze, ca la culturile de *T. gypseum asteroides*, însă acesta este un *T. ectotrix* cu spori mici (microid). În fragmente de cultură, la microscop, se pot observa aleurii numeroase, în spic sau ciorchini și mai rar fusuri tipice. Această specie se pleomorfizează destul de rar și se poate inocula la cobai căruia îi provoacă o tricofiție uscată și depilantă.

TRICHOPHYTON CRATERIFORME

Sinonimie. *Trichophyton tonsurans.*

Morfologie. Este asemănătoare cu aceea a lui *T. cerebriforme.*

Culturi. Se dezvoltă repede dînd colonii prăfoase, de culoare albă-gălbuie, cu aspect de crater lunar, pe mediul de probă Sabouraud (de unde și numele de specie, *T. crateriforme*).

60 — c. 73

TRICHOPHYTON ACUMINATUM

Sinonimie. *Trichophyton sabouraudi.*

Morfologie. Este asemănătoare cu aceea a lui *T. cerebriforme*, ca și *T. crateriforme.*

Culturi. Pe mediul de probă maltozat, cultura debutează printr-o cupolă mică din vîrful căreia pleacă mici canalicule radiare, mai mult sau mai puțin profunde. Această formă ascuțită a culturii explică numele de specie (*T. acuminatum*). Culturile sînt de culoare galbenă sau brună. Această ciupercă, cultivată pe mediile obișnuite (Sabouraud), nu se pleomorfizează.

Alte specii de *T. endotrix* : *T. plicatile*, *T. exsicatum*, *T. ochropyraceum* etc. sînt socotite ca variante ale speciilor precedente.

În trichofițiile uscate, s-au mai depistat, foarte rar, ca agenți patogeni, în afară de speciile *T. endotrix* și specii de *T. ectotrix*, cum ar fi : *T. gypseum*, *T. niveum* și *T. faviforme album* care provoacă, de obicei, leziuni de tip inflamator supurativ.

TRICHOPHYTON GYPSEUM

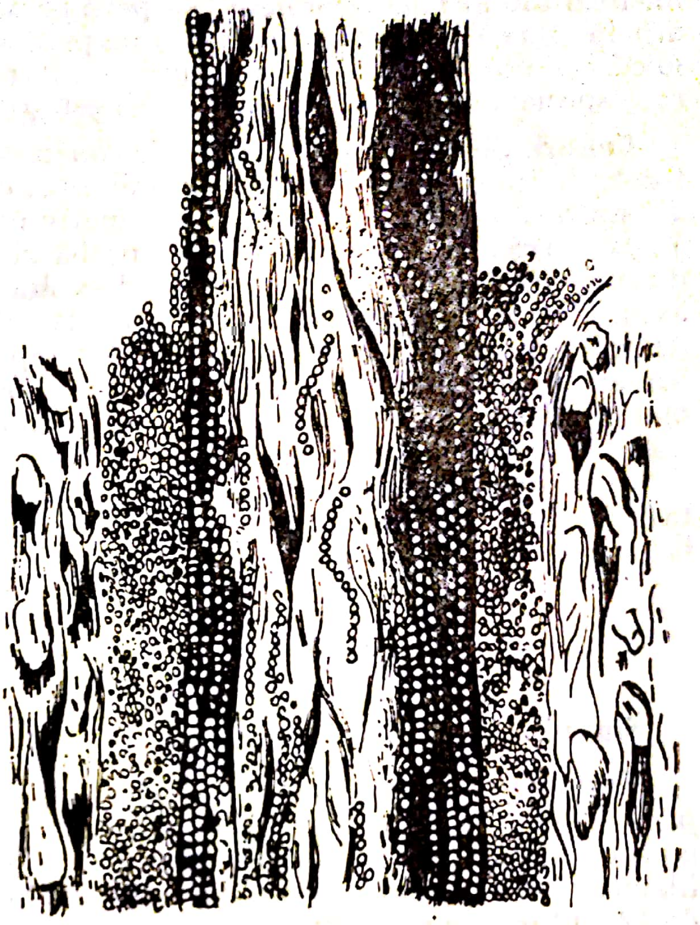
Sinonimie. *Ctenomyces mentagrophytes.*

Morfologie. La examenul microscopic al scuamelor, parazitul se prezintă sub forma de filamente miceliene de 2—4 microni grosime, septate la distanțe de 10—20 microni, ramificate și sub forma de arthrospori în lanțuri ; perii se prezintă înfășurați într-un manșon constituit din filamente miceliene subțiri și din arthrospori mici, inegali, de 2—11 microni diametru, manșon ce seamănă cu acela din microsporie (fig. 342) și care se găsește în interiorul pîlniei foliculare, oprindu-se la cîțiva milimetri deasupra punctului de emergență al părului din folicul. Sporii ce constituie manșonul au o dispoziție în lanț foarte netă, ceea ce nu se constată la microsporie, și mai cuprinde și filamente miceliene care, lipsesc de obicei în microsporie. În interiorul firului de păr se văd numeroase filamente miceliene subțiri, ramificate în direcția bulbului și septate la distanțe variabile, cu tendința, pe alocuri, la formare de arthrospori.

Culturi. În 3—4 săptămîni, se obțin culturi, pe mediile Sabouraud, de culoare alb-gălbuie, cu aspect fin granulos, gipsos, de unde și numele speciei *T. gypseum.* Pe mediul de încercare Sabouraud, suprafața culturilor este netedă, în timp ce pe mediul de conservare Sabouraud, suprafața lor este mai mult sau mai puțin plisată, iar la varietatea *T. asteroides*, culturile sînt în formă de crater. Pe mediile zaharate obișnuite, culturile se pleomorfizează foarte repede. Examinate la microscop, culturile prezintă numeroase aleurii în formă de ciorchini compuși (de unde și aspectul gipsos), fusuri cu extremitățile rotunjite, organe nodulare, vrile (spirale) strînse. Această specie se poate inocula la animale de laborator, iar gazda sa principală, după unii autori (Sabouraud), ar fi calul, după alții (Arievici), șoarecele.

Fig. 342: Păr de om invadat de un *Trichophyton ectotrix*.

Se observă sporii din afara păru lui așezați în șiraguri (schemă după *Sabouraud*, în Brumpt, 1949).



TRICHOPHYTON NIVEUM

Sinonimie. *Ctenomyces radians.*

Morfologie. În scuame, parazitul are aceeași morfologie ca și *T. gypseum*, prezentîndu-se ca un *T. ectotrix*, sau mai degrabă ca un *T. endoectotrix*, prin teaca de spori mici și filamente miceliene subțiri pe care o formează în jurul părului și prin filamentele miceliene din interiorul acestuia. Această specie a fost inclusă de Sabouraud într-un grup aparte „*microizi*", la un loc cu *T. gypseum*, din cauza sporilor săi mici.

Culturi. Pe mediul de probă maltozat se obține o colonie prăfoasă, albă ca zăpada (de unde și numele de specie *T. niveum*), ușor ombilicată la centru și avînd un număr mare de raze fine ondulate la periferie (de unde și numele celălalt de specie *C. radians*).

Parazitul nu se pleomorfizează și se poate inocula la cobai, cu multă ușurință, iar gazda — după Sabouraud — este tot calul, ca și în cazul lui *T. gypseum*.

TRICHOPHYTON ALBUM

Sinonimie. *Trichophyton faviforme.*

Morfologie. Această specie face parte dintre trichofitonii megaspori întrucît are spori mari (de două ori mai mari ca arthrosporii trichofitonilor microizi sau ai microsporonilor) în perii parazitați și sînt dispuși în lanțuri, atît în afara cît și înăuntrul firului de păr; se mai observă și rare filamente miceliene groase, septate la distanțe relativ mari. *T. album* este considerată ca o specie *T. ectotrix*, cu toate că ea este de fapt *T. ectoendotrix*.

Culturi. Se dezvoltă pe mediul de conservare și pe mediul de probă maltozat, destul de încet, formînd colonii albe, ceroase, ce seamănă cu cele de *T. schönleini* (*Achorion schönleini*), motiv pentru care s-a mai denumit și *T. faviforme*. Totuși, pe mediul de probă glucozat, diferențele între aceste două specii sînt nete, *T. album* se dezvoltă în grosimea mediului, colonia avînd o zonă centrală faviformă, o aureolă prăfoasă albă și o aureolă incoloră de raze imerse (cufundate în lichid), în timp ce *T. schönleini* se dezvoltă la suprafața mediului. La examenul microscopic al culturilor se observă filamente miceliene sterile și așa-numiții chlamidospori intercalari sau terminali.

T. album parazitează uneori omul, însă gazda sa obișnuită este reprezentată de către bovidee, cu deosebire cele tinere și se poate inocula cu ușurință la animale de laborator.

TRICHOPHYTON SCHÖNLEINI

Sinonimie. *Achorion schönleini, Grubyela schönleini.*

Morfologie. La examenul microscopic, ciuperca se prezintă diferit, în părul parazitat și la punctul de invadare (leziunea elementară denumită godeu). Astfel, în firul de păr, parazitul se găsește de obicei sub forma de filamente miceliene rectilinii, de 2—5 microni diametru, septate la distanțe de 12—14 microni, sau mai rar, sub forma de arthrospori în lanțuri (fig. 343) sau arthrospori dispuși în grupe asemănătoare cu oasele tarsului (tarse favice), pe care însă Langeron le consideră ca iluzii optice datorită utilizării hidroxidului de potasiu 30—40% la pregătirea preparatului microscopic. Tot acest autor, ajunge la concluzia că *T. schönleini*, cît și celelalte specii care provoacă favusul la om sînt *T. megasporați*; la punctul de invadare, unde se formează o leziune cutanată în forma de farfurioară sau cupă, așa-numitul godeu favic, de 2—3 mm— 10 mm diametru, centrată de un fir de păr parazitat, avînd culoarea galbenă ca sulful, aceasta se prezintă la microscop ca fiind constituită dintr-o aglomerare de filamente miceliene cilindrice sau prismatice, de talie mică ce se îndreaptă de la suprafață spre fundul godeului. Părul este invadat de către filamentele miceliene, la început la suprafața sa, după care acestea pătrund în interiorul firului de păr, dezvoltîndu-se în profunzime, neatingînd însă niciodată bulbul și papila părului, din cauza creșterii continue a acestuia care duce parazitul în porțiunea aeriană a părului.

Culturi. Se obțin pe mediile de cultură obișnuite Sabouraud, pe agar peptonat 5%, precum și pe mediul maltozat sau glucozat, la temperatura camerei. Se dezvoltă în 3—4 săptămîni colonii cu suprafața netedă sau ușor încrețită, de culoare ce variază de la alb-gălbui la brun-închis. Uneori suprafața are aspect pergamentos, lucios, mat, catifelat; alteori, pufos (mai rar) sau mamelonat neregulat. La examenul microscopic al culturilor, se observă numeroși chlamidospori, ramificații cu aspect de candelabru (candelabre favice) sau ramuri cu extremitatea umflată în formă de cui, iar pe mediile bogate în polizaharide pot apărea aleurii și chiar fusuri.

Parazitul este inoculabil la șoarece, cîine, iepure, găină, cobai, numai pe cale subcutanată.

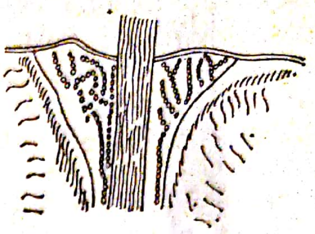


Fig. 343 Păr de om invadat de *Trichophyton* (*Achorion*) *schönleini*.
Se observă numeroși spori în jurul firului de păr (schemă după *Sabouraud*, în Brumpt, 1949).

TRICHOPHYTON QUINCKEANUM

Sinonimie. *Achorion quinckeanum*, *Sabouraudites quinckeanus*.

Morfologie. În firele de păr, parazitul se prezintă la fel ca și *Trichophyton schönleini*.

Culturi. La examenul macroscopic, culturile seamănă cu cele de *Trichophyton niveum*; la examenul microscopic, prezintă aleurii numeroase, vrile (cîrcei) și mai rar fusuri.

Trichophyton quinckeanum este agentul patogen al favusului la șoarece; la om este întîlnit mult mai rar.

TRICHOPHYTON GALLINAE

Sinonimie. *Achorion gallinae.*

Este agentul patogen al favusului galinaceelor. Inoculat experimental la om provoacă leziuni eritematoase trecătoare, fără godeuri.

GENUL MICROSPORUM

Sinonimie. *Sabouraudites*

Include ciuperci cu filamente miceliene alcătuite din articole în formă de rachetă, cu aleurii alungite purtate de un aparat sporifer simplu sau compus (tufe conidiene) și cu fusuri numeroase de culoare gălbuie, în formă de suveică (efilate la ambele extremități), cu perete subțire și pedicul subțire.

Specii antropofile: *M. audouini* și *M. ferrugineum*; specie zoofilă, întîlnită uneori și la om: *M. lanosum*.

MICROSPORUM AUDOUINI

Sinonimie. *Sabouraudites audouini*, *Sporotrichum* (*Microsporon*) *audouini*, *Trichophyton microsporon*.

Morfologie. Parazitul se prezintă în scuame sub formă de filamente miceliene subțiri, septate și ramificate și sub formă de arthrospori. Părul parazitat are la baza sa o teacă albă, formată din numeroși spori mici de 2—3 microni diametru, poliedrici, ce au o membrană cu dublu contur, spori ce se găsesc numai în jurul firului de păr și niciodată în interiorul lui, (fig. 344) în care se află filamente miceliene, septate, de 2 microni diametru, orientate în sensul părului. De la aceste filamente longitudinale intrapilare,

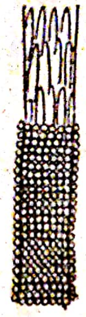


Fig. 344 Păr de om invadat de un *Microsporum*.

Se observă teaca făinoasă formată din numeroși spori ce înconjoară firul de păr parazitat (schemă după *Sabouraud*, în Brumpt, 1949)

pleacă ramificații scurte, care se îndreaptă către suprafața părului, unde, se septează, dînd apoi naștere arthrosporilor, care formează teaca periferică, arthrospori care nu mai sînt dispuși în lanțuri, ci neregulat, ca pietrele într-un mozaic. Perii parazitați devin fragili, din cauza acestor numeroase filamente miceliene fine din interiorul lor.

Culturi. Se obțin pe mediile obișnuite Sabouraud, la temperatura camerei, ciuperca dezvoltîndu-se destul de repede, sub formă de colonii plate, de culoare albă, acoperite de un puf scurt, și dens, brăzdate de niște pliuri radiare ce pleacă de la o mică ridicătură centrală. Culturile se pleomorfizează greu. La examenul microscopic al culturilor, se observă filamente micelien-ramificate, ramurile secundare fiind foarte flexuoase și pe care se remarcă niște organe pectinate (dințișori ce se formează pe partea convexă a unei ramuri îngroșate), organe ce au între 18—25 microni și care sînt filamente atrofiate (fig. 345). De asemenea se mai pot vedea rare aleurii și fusuri tipice, precum și organe nodulare.

Inocularea acestei specii, la animale de experiență, reușește foarte rare.

MICROSPORUM FERRUGINEUM

Sinonimie. *Trichophyton ferrugineum*, *Grubyella ferruginea*.

Morfologie. Aspectul parazitului, în scuame și fire de păr, este același ca la *M. audouini*.

Culturi. Pe medii de încercare Sabouraud, se obțin colonii netede sau plisate, de culoare ruginie, (de unde și numele de specie *M. ferrugineum*), uneori aurie sau slab violacee, cu suprafața lucioasă sau mată, catifelată sau pufoasă. Culturile cresc relativ repede și se pleomorfizează greu ca și cele de *M. audouini*. La examenul microscopic, se observă filamente miceliene sterile sau cu chlamidospori, intercalari sau terminali; rareori se găsesc și fusuri.

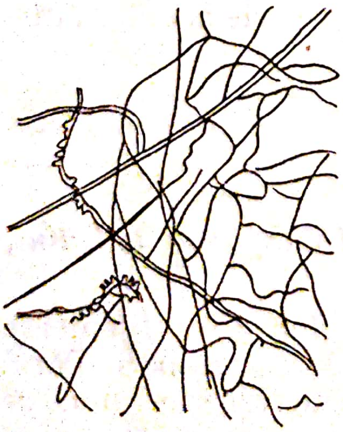


Fig. 345 *Microsporum audouini*.

Organe pectinate ale miceliului (cultură) (după *Sabouraud*, în Brumpt, 1949).

Inocularea sa la animale de laborator, reușește destul de rar.

Parazitul este originar din Extremul Orient.

MICROSPORUM LANOSUM

Sinonimie. *Microsporum felineum*, *Microsporum caninum*, *Sabouraudites lanosus*, *Sabouraudites felineus*.

Morfologie. În scuame și fire de păr, aspectul morfologic este la fel cu al celorlalte două specii, *M. audouini* și *M. ferrugineum*.

Culturi. Pe medii de încercare Sabouraud, se obțin colonii cu aspect pufos (lînos), de unde și numele speciei *M. lanosum*; totuși, în unele cazuri, sub influența unor factori externi, culturile pot să ia aspectul celor de *M. ferrugineum* sau *Trichophyton gypseum*. Se dezvoltă mai repede ca *M. audouini* și elaborează în culturi un pigment galben-auriu. Se pleomorfizează repede pe mediile zaharate obișnuite. La examenul microscopic al culturilor se observă aleurii și fusuri foarte multe, fusurile fiind ascuțite la capăt, septate și cu perete dublu; de asemenea se mai pot observa organe nodulare, organe pectinate, filamente formate din articole în rachetă. Această specie este inoculabilă la cobai.

Microsporum audouini, *M. ferrugineum* și *M. lanosum* sînt singurele specii descrise la noi în țară. Alte specii sînt cele patogene la animale: *M. equinum* întîlnit la cai și *M. villosum* la bovidee, care au însă, un rol patogen foarte mic la om.

GENUL EPIDERMOPHYTON

Se caracterizează prin miceliu subțire, macroconidii în formă de măciucă, grupate în buchete, absența microconidiilor, colonii uscate, prăfoase, de culoare galbenă-verzuie (ca lămîia necoaptă) sau cenușie-brună și pleomorfism precoce. Singura specie patogenă pentru om, căruia îi provoacă eczema marginatum a lui Hébra, *E. floccosum*, a fost considerată ca aparținînd genului *Trichophyton*, cu toate că se diferențiază net de acest gen, prin faptul că nu parazitează niciodată perii, iar în culturi, pe mediile naturale, nu prezintă aparat aleurian în ciorchine (microconidii), ci numai fuse (macroconidii) pluriseptate grupate în buchete și rare vrile (cîrcei); de asemenea se diferențiază și printr-un pleomorfism precoce.

EPIDERMOPHYTON FLOCCOSUM

Sinonimie. *Acrothecium floccosum*, *Blastotrichum floccosum*, *Trichophyton cruris*, *Trichophyton inguinale*, *Epidermophyton plicarum*, *Epidermophyton clypeiforme*, *Trichophyton carateum*.

Morfologie. În scuamele de la periferia zonei parazitate, se observă la microscop, foarte multe filamente miceliene, de 4—5 microni diametru ramificate, septate, formate din celule patrunghiulare, **așezate cap la cap**, care se desprind ușor una de alta (fig. 346). Filamentele miceliene se dezvoltă orizontal, în stratul cornos al epidermului și nu invadează niciodată perii.

Culturi. Pe mediul de probă Sabouraud, se dezvoltă lent, dînd o cultură galben-verzuie (ca lămîia necoaptă) sau cenușie-brună, uscată, prăfoasă, care devine repede pufoasă și albă prin transformare pleomorfică. La examenul microscopic, în cultură nu se observă decît fuse pluriseptate, rotunjite, la capăt, foarte caracteristice, ca acelea întîlnite la *Trichophyton gypseum*. Inoculările la animale sau om, au fost întotdeauna negative.

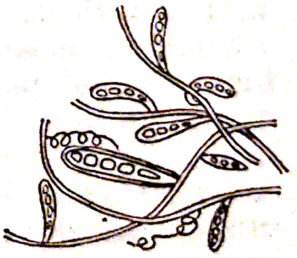


***Fig. 346. Epidermophyton floccosum*:** elemente morfologice (fuse și circei) (schemă parțială după *Langeron* și *Milochevitch*, în Brumpt, 1949).

EPIDERMOPHYTON INTERDIGITALIS

Sinonimie. *Epidermophyton Kaufmann-Wolf, Epidermophyton pedis, Ctenomyces interdigitalis.*

Morfologie. Este foarte apropiat, din punct de vedere botanic, de Trichophytonii microizi, *T. gypseum* și *T. niveum*, fără a fi însă piogen ca aceștia. Se găsește în stratul cornos al epidermului, sub formă de filamente miceliene lungi, septate, ramificate, iar unele din ele transformate în lanțuri de arthrospori.

Culturi. Se dezvoltă repede pe mediile obișnuite, dînd culturi albe, pufoase, ca acelea de *Trichophyton niveum* sau *T. quinckeanum*, iar la partea lor superioară avînd un aspect prăfos sau chiar gipsos, ca *T. gypseum* și secretînd uneori, ca și acesta, un pigment brun-violet. La examenul microscopic al culturilor se observă, ca și la culturile de *T. gypseum*, numeroase aleurii, fusuri și spirale. Această ciupercă este inoculabilă la animale.

EPIDERMOPHYTON RUBRUM

Sinonimie. *Trichophyton rubrum, T. purpureum, Sabouraudites ruber, Trichophyton rubidum.*

Morfologie. Este asemănătoare cu a lui *Epidermophyton interdigitale.*

Culturi. Se dezvoltă repede pe mediile obișnuite, dînd culturi pufoase, de culoare roșie-închis, roz, albăstruie sau galbenă ca sulful, existînd însă și sușe incolore. La examenul microscopic, culturile prezintă numeroase aleurii și fusuri. Inocularea acestui parazit la animale de laborator este dificilă.

Rol patogen. Ciupercile din genurile *Trichophyton, Microsporum* și *Epidermophyton*, provoacă afecțiuni care se încadrează în grupa dermatomicozelor, primele două genuri avînd ca localizare electivă pielea păroasă a capului, dar și pielea glabră, unghiile etc., în timp ce genul *Epidermophyton* nu parazitează niciodată părul ci numai pielea și în unele cazuri unghiile.

La noi în țară, dintre Trichophytonii endotrix, *T. violaceum* (în cele mai multe cazuri), *T. cerebriforme* (*flavum*), *T. crateriforme* și *T. acuminatum*, (în mică măsură), precum și dintre Trichophytonii ectotrix, uneori, *T. gypseum*, *T. niveum* și *T. faviforme album*, provoacă *tricofiția uscată a pielii capului și a pielii glabre*, micoză ce se întîlnește, mai ales, la copiii între 8 și 10 ani și, destul de rar, la copiii sub 2 ani și la adulți. Persoana parazitată, prezintă pe pielea capului, niște plăci scuamoase, de cîțiva milimetri diametru, de formă neregulată, uneori aproape circulară, însoțite în unele cazuri de o ușoară roșeață și infiltrație, plăci care, în unele locuri, pot conflua, formînd placarde ca la *microsporie*, dar mai mici, mai neregulate și mai puțin bine delimitate ca la aceasta. La suprafața plăcilor perii par răriți, din cauză că un număr variabil din ei sînt rupți, la 1—3 mm de la emergență, albicioși, foarte fragili și răsuciți. Uneori, perii sînt rupți în grosimea scuamelor sau dedesubtul lor și nu pot fi văzuți decît ridicînd scuamele cu o pensă; alteori, ei se rup chiar la orificiul extern al foliculului pilos, observîndu-se ca niște puncte negre, ușor proeminente, la nivelul foliculului sau nu se observă nici acestea, ajungîndu-se la o *tricofiție ,,peladoidă''*.

Aspectul leziunilor din tricofiție este diferit față de cele din microsporie; în tricofiție putîndu-se extrage, pe lîngă peri extrem de fragili și peri întregi, însă cu teaca epitelială a porțiunii intrafoliculare, inflamată, în timp ce, în microsporie, plăcile par tunse cu mașina, avînd aspect de *micoză tondantă. Tricofitiile netratate duc la alopecie, însă nu atît de întinsă ca în favus* (micoză provocată de *Trichophyton schönleini*).

Pe pielea glabră, ciupercile din grupa Trichophytonilor endotrix, provoacă *herpesul circinat*, ce se prezintă de obicei sub formă de placarde eritematoscuamoase rotunde sau cu contur policiclic, mai active la periferie. *Herpesul circinat* este întîlnit mai rar în regiuni păroase (barbă etc.).

Manifestările la distanță a tricofiției uscate — *tricofitidele* — sînt foarte rare.

Tricofiția supurată (*kerion Celsi*) *a pielii capului* (keria = inflamație profundă) este provocată de specii din grupa Trichofitonilor ectotrix, zoofilă, majoritatea din aceste specii fiind microizi din grupul *T. gypseum* și mai rar de specii de Trichophytoni endotrix (*T. violaceum* sau *T. flavum*) sau de o specie de *Microsporum*. Această micoză apare la început ca un herpes circinat pe pielea capului, sub formă de placarde eritematoscuamoase sau eritematoveziculoase rotunde, care își exagerează inflamația după cîteva zile, producîndu-se o supurație foliculară profundă, din pustulele foliculare scurgîndu-se un puroi cenușiu-gălbui, bine legat, cu miros neplăcut; majoritatea perilor sînt eliminați spontan, placardul devenind în parte alopecic, rotund, cu aspect tumoral, avînd la periferie rare fire de păr parazitate care sînt fragile și decolorate, iar pe întreaga suprafață a sa sînt cruste brune, aderente, datorită puroiului ce s-a uscat. În această micoză, în afară de leziuni locale, se mai constată tumefierea ganglionilor retroauriculari și suboccipitali, manifestări la distanță — *tricofitide* — precum și semne generale (cefalee, frison, febră moderată, artralgii). Reacția la tricofitină este pozitivă. Boala se vindecă deseori și spontan.

Micozele bărbii și mustăților sînt provocate mai ales de Trichophytoni endotrix, dintre care, la noi în țară *T. cerebriforme* (*T. flavum*) ocupă primul loc, urmat de *T. violaceum*, precum și de către Trichophytoni ectotrix (*T. niveum*, *T. gypseum* și *T. rosaceum*) și uneori de *Microsporum lanosum* și *M. audouini*. Leziunile pot fi uscate, fără inflamație, sau supurate de tip kerion, afecțiunea începînd în toate cazurile prin placarde superficiale eritematoscuamoase și eritematoveziculoase, de tipul herpesului circinat, iar ulterior, acestea se inflamează și se infiltrează, formînd placarde pustuloase de tip kerion. Perii parazitați din barbă sînt, în general, drepți și nu incurbați ca la tricofiția pielii capului, în plus, ei sînt fragili și albicioși.

Tricofiția cronică a adultului. Deși multă vreme s-a crezut că tricofiția superficială a pielii capului este inexistentă la adult, totuși ea există și provine, fie din extinderea unei tricofiții superficiale a bărbii în pielea capului, fie, mai rar, prin contaminarea în mod direct sau indirect, de la un copil bolnav de tricofiție. Are ca agent patogen pe *T. violaceum* și se poate localiza în regiunile păroase (pielea capului și barbă, la bărbat), în pielea glabră și unghii. În pielea capului, boala se manifestă prin apariția de puncte negre datorită perilor parazitați rupți la nivelul tegumentului, și de plăcuțe atrofice, ovale sau rotunde de 1—2 cm diametru, la nivelul cărora foliculii piloși sînt distruși. În pielea glabră, leziunile sînt localizate, mai ales pe genunchi, gambe, fese, antebrațe, umeri, palme, plante, fețele laterale și dorsale ale picioarelor și nu sînt ca un herpes circinat, ci au aspect de pete albăstrui-roșietice, uneori roșii-violacee, de 1—3 cm diametru, izolate sau confluente, formînd placarde mai mari, la care se observă o ușoară descuamație neuniformă.

Tricofiția unghiilor însoțește de obicei o tricofiție cronică a pielii glabre și a pielii capului și se localizează la unghiile de la mîini și picioare, afectîndu-le parțial sau în totalitate. Unghiile iau un aspect hipertrofic sau atrofic. În primul caz are loc un proces de hiperkeratoză subunghială, unghia devenind groasă, bombată, tabla externă rămînînd însă intactă, masa cornoasă subunghială devenind friabilă, se poate elimina, realizîndu-se aspectul de tunel. Uneori unghia este friabilă numai la extremitatea ei liberă și pare mîncată. În al doilea caz (aspect atrofic), unghiile devin mai subțiri, mai friabile, eliminîndu-se porțiuni unghiale de la nivelul extremității lor libere. În unele cazuri, unghiile își mențin grosimea lor normală dar, își pierd luciul, avînd fisuri longitudinale și lipsuri la extremitățile lor libere.

Favusul este provocat de *Trichophyton schönleini*, parazit încadrat multă vreme într-un gen aparte — *Achorion* — și se manifestă sub formă de mici pete roșii, ce devin apoi scuamoase, în jurul foliculilor piloși, și care ulterior se transformă în godeuri, ce cresc treptat, ajungînd de la mărimea unei gămălii de ac, la aceea a unui bob de linte sau și mai mare. Godeul este o formație circulară, deprimată în regiunea centrală, de culoare galbenă ca sulful, uscată, friabilă, aderentă și de obicei centrată de unul sau mai multe fire de păr. După îndepărtarea godeului rămîne o suprafață roșie, erodată sau o mică ulcerație. Godeurile se pot dezvolta mai multe la un loc, dînd naștere la grupe de godeuri asemănătoare cu cuiburile de rîndunică sau se pot suprapune, formînd cruste groase galbene, ce ajung la 1 cm grosime sau mai mult, caz în care boala ia numele de *favus squaros*. Perii ce străbat godeurile pierd luciul, sînt cenușii, mai deschiși la culoare și mai fragili decît perii normali, însă destul de rezistenți, spre a păstra o lungime de mai mulți centimetri sau chiar lungimea normală. Uneori se întîlnește și o inflamație difuză în jurul godeurilor, cu roșeață, descuamație abundentă și în unele cazuri cu secreție care aglutinează perii. Fără tratament, boala evoluează către atrofie cicatriceală, cu apariția de zone alopecice, de mărimi și forme variate, care se întind treptat, cu pielea deprimată, lucioasă, subțiată, albă sau congestionată, cu desemnul normal dispărut, fără urme de foliculi. Placardele favice exală un miros de urină de șoarece.

Favusul nu se vindecă spontan la pubertate ca tricofiția și microsporia, ci continuă să evolueze și la vîrsta adultă, extinzîndu-se la toată pielea capului, rămînînd totuși, în majoritatea cazurilor o zonă îngustă neatinsă, mai lată în regiunea occipitală, și foarte îngustă sau chiar absentă înspre frunte. În unele cazuri, această micoză se poate prezenta și sub formă atipică ca de exemplu *favusul pitiriazic* și *favusul impetigoid*. În *favusul pitiriazic*, apar leziuni sub formă de placarde mari, scuamoase, cu peri decolorați și fără luciu, pe pielea capului care, este ușor inflamată, proeminentă, congestionată și acoperită cu scuame fine foarte aderente. Această formă evoluează către alopecie ca și favusul tipic. În *favusul impetigoid*, mai rar întîlnit decît cealaltă formă, leziunile sînt sub formă de placarde crustoase, cu cruste galben-brune aderente, semănînd cu un impetigo, iar perii ce străbat crustele sînt fără luciu, ca și perii din favusul obișnuit și ca și acesta evoluează spre alopecie cicatriceală.

Favusul pielii capului se mai poate prezenta și sub un *aspect circinat* cu placarde rotunde și cu godeuri situate mai mult la periferie.

O altă localizare a favusului este pe pielea glabră, întîlnită fie la persoane ce îngrijesc bolnavii cu favus al pielii capului, fie în cazul parazitării cu *Trichophyton quinckeanum*, agentul patogen al favusului de la șoarece, care la om provoacă *favusul circinat*, de obicei, numai pe pielea glabră, fie la bolnavii cu favus al pielii capului, la care, prin autoinoculare externă, poate apărea pe trunchi și membre leziuni de favus, sub formă de mici pete eritematoscuamoase, palide, neregulate, în a căror scuame să se găsească *Trichophyton schönleini*. În unele cazuri, se găsesc chiar și godeuri tipice, diseminate pe toată suprafața corpului, caz în care este vorba de un *favus generalizat*, întîlnit mai ales la persoane debilitate sau suferinde de boli cronice emaciante. Tot printre alte localizări se situează și *onichomicoza favică*, întîlnită destul de rar, mai ales la degetele de la mîini, afecțiune ce seamănă cu *onichomicoza tricofitică*, de care totuși se deosebește prin culoarea galbenă a unghiei bolnave și prin prezența, uneori, de godeuri în patul unghial.

Trichophyton schönleini mai poate fi găsit în ulcerațiile miliare ale mucoasei bucale, ale mucoasei stomacului și intestinului, la favicii debilitați, precum și în ganglionii suboccipitali și laterocervicali, în unele cazuri, la aceiași bolnavi. În fine, în alte cazuri, parazitul poate invada întreg organismul provocînd leziuni viscerale.

Specii ale genului *Microsporum*, îndeosebi *M. audouini* și *M. ferrugineum*, provoacă *microsporia*, micoză ce se întîlnește — ca și *tricofiția* — mai ales la copiii între 8 și 10 ani și foarte rar la copii sub 2 ani și peste 16 ani, băieții fiind în mai mare măsură parazitați decît fetele. *Microsporia* este cea mai contagioasă dintre micozele pielii capului și se vindecă spontan la pubertate aproape în toate cazurile.

Microsporia uscată tipică este localizată pe pielea capului și se prezintă sub forma de plăci acoperite de scuame furfuracee, rotunde sau ușor ovalare, de 2—5 cm diametru, cu contur bine delimitat. Dedesubtul scuamelor se observă un ușor eritem iar la suprafața plăcilor perii sînt rupți în majoritate, la 3—8 mm de la emergența lor, sînt rectilinii și înveliți pe o înălțime de 3—5 mm de la suprafața pielii, într-o teacă cenușie-albicioasă avînd un aspect cretos. Perii rupți, cam de la aceeași înălțime, par tunși cu mașina, de unde și aspectul de *micoză tondantă* a microsporiei. În unele cazuri, plăcile pot conflua, formînd placarde mari, cu contur policiclic. Uneori, se întîlnesc și *forme atipice* cu plăci mici și numeroase și cu peri incurbați, ca la tricofiție, sau forme cu plăci unde perii au căzut în totalitate, avînd aspect de plăci peladice, caz în care boala este numită *tinea decalvans*, formă destul de rar întîlnită. Tot ca forme mai deosebite de microsporie, sînt și *formele inflamatorii*, de tip *kerion*, cînd plăcile sînt însoțite de cîteva pustule superficiale, cu infiltrație redusă și de o exsudație moderată, forme foarte rar întîlnite.

Microsporia se mai poate localiza și pe pielea glabră, mai adesea pe față și gît, această micoză prezentîndu-se sub formă de plăci mici, de 1—2 cm diametru, rotunde, eritematoscuamoase, de culoare palidă, sau sub formă de *herpes circinat* în placarde eritematoscuamoaseveziculoase, rotunde, mai active la periferie, fiind cel mai adesea provocate de *Microsporum lanosum*. Mai rar se localizează în barbă la adulți și extrem de rar la unghii.

Epidermophyton floccosum provoacă *epidermofiția inguinală sau genito-crurală*, denumită încă și *eczema marginatum a lui Hébra*, micoză localizată de obicei la partea superioară a feței interne a coapselor, dar și în alte locuri (plicile axilare, poplitee, submamare, precum și pe plante, palme, spațiile interdigitale de la picioare, abdomen, torace și rareori pe față, pielea capului, mucoasa penisului, mucoasa anală). Afecțiunea începe cu o mică pată eritematoasă, rotundă, foarte puțin proeminentă, care, treptat, se întinde spre periferie și se acoperă de mici scuame sau vezicule, ajungînd la dimensiunile unei palme de adult. Leziunile pot fi unilaterale sau bilaterale, sînt pruriginoase, se pot eczematiza sau lichenifica și dacă nu se aplică tratament durează zeci de ani.

O altă afecțiune provocată de specii de *Epidermophyton*, în majoritatea cazurilor, *E. interdigitale*, este *epidermofiția plantară și palmară*, boală a vîrstei adulte, mai frecventă la bărbați decît la femei, favorizată de transpirație locală, care macerează stratul cornos al epidermului, cît și de alte cauze. Boala se prezintă sub trei forme; *formă dishidroziformă*, cu vezicule de mărimea unui bob de mei sau a unui bob de grîu, cuprinse în stratul cornos, înconjurate adesea de un halo inflamator și care cresc în mod excentric pe marginile picioarelor și pe fața lor plantară, în spațiile interdigitale și în regiunile submaleolare și retromaleolare, pe mîini afecțiunea fiind mai puțin frecventă; o *formă uscată, scuamoasă, hiperkeratozică*, care, de obicei, este o urmare a formei precedente, datorită dispariției veziculelor, rămînînd în locul lor o îngroșare a epidermului cornos cu descuamare și care este localizată de obicei pe marginile picioarelor și pe fața inferioară a degetului mare de la picior; o *formă intertriginoasă*, localizată mai ales la picioare în spațiile interdigitale și plicile digito-plantare, epidermul cornos al acestora fiind macerat, albicios, putîndu-se îndepărta ușor, permițînd să se vadă o suprafață roșie, umedă și fisuri (care sînt dureroase), iar la periferia acestor zone se pot observa vezicule cît un bob de mei, ca la forma dishidrozică. Aceste trei forme pot fi adesea asociate. O altă formă de *epidermofiție a spațiilor interdigitale* de la picioare, denumită și *rubrofiție*, este provocată de *Epidermophyton rubrum*. Această micoză, foarte răspîndită (Asia, America etc.), însă rar întîlnită la noi, se mai poate localiza și la marile plici și se deosebește clinic de epidermofiția provocată de *E. inguinale* prin aceea că se extinde și pe dosul picioarelor, iar cînd este localizată în regiunea genito-anală, se extinde și pe fese și pubis, iar leziunile sînt papuloase și nu veziculoase.

Diagnostic. În dermatomicoze, diagnosticul se poate pune, de multe ori, numai după aspectul clinic al leziunilor, dar, pentru stabilirea diagnosticului de certitudine, este necesar și examenul de laborator al materialului patologic, recoltat de la bolnav, cum ar fi fire de păr din pielea capului și barbă, scuame, acoperișul veziculelor sau bulelor, fragmente de unghii, puroi etc. Aceste produse se examinează la microscop, de obicei pe preparate necolorate, între lamă și lamelă, fiind nevoie, în unele cazuri, de a se trata preparatul cu anumite substanțe disociante, cum ar fi hidroxidul de potasiu, în soluție 20—30% care dizolvă cimentul intercelular al celulelor cornoase din peri, scuame, unghii, transparentizîndu-le. Pe preparate microscopice, ciupercile dermatofite se prezintă destul de uniform, sub formă de filamente și spori, sau, uneori, numai filamente, avînd caracterele morfologice descrise mai înainte, la fiecare specie în parte. În unele cazuri, se examinează și preparate colorate prin tehnici care se bazează pe reacții histochimice de evidențiere a polizaharidelor conținute în diverșii agenți micotici, singurele care au o valoare practică, așa cum este de exemplu tehnica lui Hothkiss — Mac Manus. Examenul direct microscopic al produsului patologic, în majoritatea cazurilor, ne precizează genul parazitului; pentru a se determina și specia este nevoie de a se obține culturi care, examinate atît macroscopic (dimensiune, culoare, aspect), cît și microscopic (filamente miceliene, spori etc.), vor furniza date în sprijinul identificării agentului parazitar, date care au fost expuse la fiecare specie.

Diagnosticul serologic în afecțiunile micotice este numai o metodă adjuvantă care se folosește rareori, el neavînd valoare practică reală.

Inocularea experimentală la animale de laborator este necesară uneori, deși infectarea experimentală a animalelor nu dă rezultate constante. Animale sensibile pentru inocularea cu dermatofiți sînt : cobaii, șoarecii, șobolanii și iepurii.

Diagnosticul prin luminiscență. — Examenul pielii capului la lampa Wood (care emite raze ultraviolete cu lungime mică de undă), în camera obscură, depistează perii parazitați cu *Microsporum*, după colorația verzuie strălucitoare pe care o iau aceștia, fenomen ce nu apare în *tricofiție* și *favus*.

Tratament. Tratamentul micozelor uscate ale pielii capului se face cu griseofulvină (comprimate a 125 mg), care se administrează la adulți cîte 500 mg—1 g pe zi (fracționat în 3 prize după mese), zilnic, timp de 3—6 săptămîni (în onicomicoze 4—12 luni); la copii se va da 10 mg/kilocorp pe zi. Local se badijonează zilnic cu o soluție de alcool iodat și salicilat 1% sau cu fenosept diluat 1/3. Părul se va tunde scurt. Șepcile, bonetele, căciulile vor fi sterilizate prin călcat, sau, vor fi înlocuite cu altele. În favus, după spălare cu apă și săpun, se va aplica cîteva zile o pomadă, decapantă. cu acid salicilic 3—5%, conținînd, dacă este cazul, și antibiotice 2—3%,

În tricofițiile supurate (foliculitele tricofitice, kerion Celsi, sicozisul tricofitic al bărbii), tratamentul general constă, ca și în formele uscate ale pielii capului, în administrarea de griseofulvină, în doză de 1 g pe zi la adult (în 2—4 prize), 0,50—1 g pe zi la copii și 0,125—0,250 g la sugari, timp de 3 săptămîni în medie. Se va aplica și tratament local care constă în epilarea manuală a perilor parazitați, după care se va badijona cu o soluție de violet de gențiana 1% sau cu fenosept diluat 1/3. Se vor aplica și unguente cu acțiune mixtă antimicrobiană și antifungică (decaderm, saprosan).

În tricofițiile pielii glabre, dacă leziunile sînt numeroase, descuamate, se va aplica un tratament mixt, administrîndu-se ca tratament general, griseofulvină, timp de 10—15 zile ca la micozele pielii capului, iar ca tratament local, se vor face zilnic, badijonări cu soluție alcoolică salicilo-iodată 1%, sau cu fenosept diluat 1/3 și aplicări de unguente, ca și la ticofițiile supurate, decaderm, saprosan, buclosamid (jadit).

În epidermofiții, după curățirea regiunii bolnave, se va badijona o dată pe zi cu tinctură de iod diluată 1/5 în alcool, acoperindu-se apoi cu pomadă cu oxid de zinc, timp de 8 zile. În cazurile rezistente se va întrebuința pomadă cu chrysarobină 1% (Sabouraud) sau buclosamid.

GENUL ACTINOMYCES

Sinonimie. *Streptothrix*, *Cladothrix*, *Discomyces*, *Nocardia* (pro parte), *Cohnistreptothrix*, *Brevistreptothrix*, *Oospora* (pro parte), *Actinostreptothrix*, *Actinomyceton* (pro parte), *Actinobacterium*.

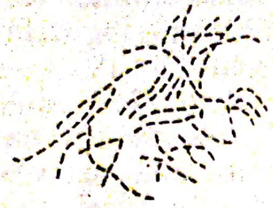


Fig. 347: Actinomyces minutissimus într-o scuamă de eritrasma (×1 000 ori) (după *Darier*, parțial, în Brumpt, 1949).

Cuprinde Hyphomycete cu filamente miceliene foarte fine, neseptate, cu diametrul de 1 micron sau mai puțin, adesea ramificate lateral, cu conținut omogen, fără nuclei distincți, adesea disociate în articole bacteroide sau coccoide. Se colorează cu culori de anilină, sînt în general Gram pozitive și uneori acido-rezistente. Miceliul, mai întîi continuu, se septează ulterior, formîndu-se lanțuri de endospori la extremitățile filamentelor aeriene care, se măresc ușor. Acești spori nu sînt constanți. Brumpt, precizează că a semnalat deja, la capitolul micetoamelor actinomicozice, că mulți autori consideră *Microsifonatele*, din care face parte și acest gen, ca niște *Bacteriaceae*, acesta însă le consideră ca ciuperci aberante (denaturate). Sînt mai multe specii de *Actinomyces* care interesează medicina.

ACTINOMYCES MINUTISSIMUS

Sinonimie. *Microsporum minutissimum, Trichothecium sp., Microsporon gracile, Sporotrichum minutissimum, Microsporoides minutissimus.*

Morfologie. Se prezintă sub formă de filamente miceliene cu un diametru de 0,60—1,30 microni, drepte sau cu nodozități, rar ramificate, fragmentate în elemente cu o lungime de 5—15 microni; uneori fragmentele sînt globuloase, asemănătoare cu micrococi dispuși în lanț (fig. 347).

Culturi. În general culturile dau rezultate negative. Unii autori au obținut culturi pe gelatină sau pe cartof.

Rol patogen. Provoacă *eritrasma*, o micoză cutanată fără gravitate, întîlnită mai ales la bărbații adulți sau vîrstnici, mai rar la femei și niciodată la copii, mai frecventă la cei care transpiră mult, întîlnindu-se atît la cei foarte îngrijiți, cît și la cei care nu prea se spală. Localizarea obișnuită este pliul genitocrural (unilateral sau bilateral), putînd să se întindă spre pubis, fața superioară a coapselor și pe scrot, mai rar în axile și extrem de rar în pliurile submamar și abdominal la persoanele obeze, sau la pliurile de flexiune a articulațiilor mari.

Leziunile de eritrasma se prezintă ca niște plăci cu un contur net, policiclic și dantelat, de culoare roșu-închis sau galben-brun, cu suprafața plană, fin scuamoasă (făinoasă), adesea cu pliuri fine ce formează o rețea cadrilată, ce devine în timpul transpirației, umedă și unsuroasă.

Simptome. Nu sînt simptome subiective decît, uneori, prurit moderat, care survine după transpirație.

Diagnostic. Se face prin examinarea la microscop a scuamelor epidermice din plăcile de eritrasma, după tratarea lor cu hidroxid de potasiu soluție 40%. Clinic, boala se poate confunda uneori cu eczema marginată a lui Hébra, tricofiția inguinală, pityriasis versicolor și lichenul simplu al pliului genito-crural.

Prognostic. Este o afecțiune benignă de foarte lungă durată.

Tratament. Se face prin badijonare repetată cu tinctură de iod diluată 1/10, sau cu o soluție de permanganat de potasiu 1‰ și prin aplicații de pomezi cu sulf sau cu naftol.

GENUL SPOROTRICHUM

Cuprinde ciuperci cu conidii simple sau septate, inserate direct pe filamentele miceliene prin intermediul unui pedicul care persistă pe filament după căderea sporului. Speciile acestui gen sînt foarte răspîndite în natură, ca saprofite; unele dintre specii însă, pot deveni parazite ale omului, animalelor și vegetalelor. Dintre acestea, practic, numai *Sporotrichum schenki* interesează medicina.

SPOROTRICHUM SCHENKI

Sinonimie. *Rhinocladium schenki.*

Morfologie. Întrucît la examenul direct nu se obțin rezultate satisfăcătoare, se recurge, de cele mai multe ori, la însămînțări pe medii de cultură.

Culturi. Se dezvoltă ușor pe mediul Sabouraud, atît la temperatura camerei, cît și la +37°C, dînd colonii netede, de culoare albă, atunci cînd incubația s-a făcut la +37°C, sau cu suprafața încrețită, de culoare brună sau neagră, cînd acestea s-au dezvoltat la temperatura camerei. La început coloniile au un aspect umed, pentru ca mai tîrziu să devină uscate, pulverulente.

La examenul microscopic al coloniilor, se observă filamente miceliene subțiri de 2 microni diametru, cu ramificații laterale, cu conidiofori, scurți care poartă, lateral sau în vîrful lor, conidii rotunde, piriforme, ovale sau alungite, solitare sau în mănunchi (fig. 348). Preparatele colorate cu metoda Gram sînt Gram pozitive. Ciuperca poate fi inoculată la șoarecele alb mascul sau la șobolan, intraperitoneal; în cazul unor sușe patogene, apar leziuni în ganglionii limfatici și în splină, peritonită și, ceea ce este mai caracteristic, orhită.

Rol patogen. Parazitul existînd, ca saprofit, pe plante sau în pămînt, pătrunde de obicei prin piele, printr-o mică soluție de continuitate (înțepare cu un spin) și provoacă, fie o micoză cutanată profundă, cronică, caracterizată prin nodozități indurate, gome ramolite, abcese, ulcere și cicatrici, fie o formă limfangitică, în care gomele se înșiră de-a lungul vaselor limfatice, în general pe membre, avînd ca punct de plecare același șancru de inoculare (șancru sporotrichozic), în urma unui mic traumatism, un mic nodul dermohipodermic, care ulterior se necrozează. O altă localizare a parazitului este cea pulmonară, fie de la șancrul de inoculare, prin invadare în profunzime, fie, cel mai frecvent, prin pătrunderea sa prin mucoasa respiratorie. Sporotrichoza pulmonară se manifestă prin febră, tuse accentuată, transpirație nocturnă, adinamie, pierdere în greutate. Au fost descrise în această micoză și leziuni cavitare, ca la tuberculoză.

Diagnostic. Se poate face în 4—8 zile prin cultură sau, și mai rapid, prin metoda sporoaglutinării a lui Widal și Abrami (serul bolnavilor de sporotrichoză poate uneori să aglutineze 1/1500, în practică de la 1/200 la 1/500). De asemenea, reacția de fixare a complementului, cutireacția și intradermoreacția la sporotrichină sau la trichofitină pot da uneori rezultate. Diagnosticul diferențial se face cu tuberculoza și cu celelalte afecțiuni micotice.

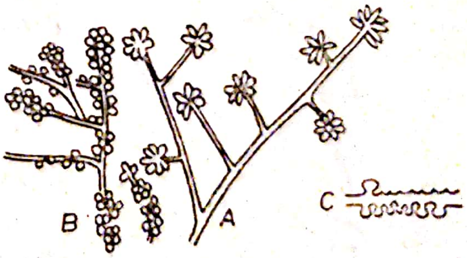


Fig. 348: *Sporotrichum schencki*:

(A) buchete conidiene terminale la începutul sporulaţiei; (B) manşoane conidiene caracteristice; (C) detalii asupra inserţiei conidiilor (după *Langeron*, parţial, în Brumpt, 1949).

Prognostic. Favorabil cînd boala este izolată și grav cînd este asociată cu o altă afecțiune (tuberculoză etc.).

Tratament. Se administrează iodura de potasiu, în doze mai ridicate, ajungîndu-se treptat la 40 picături sau mai mult, pe zi, în funcție de toleranța individuală, iar în cazuri de eșec se aplică tratamentul cu amphotericina B. În caz de intoleranță gastrică, unii autori recomandă a se administra iodul sub formă de lipiodol 20% sau 40%, în doze crescînde, o dată sau de două ori pe săptămînă, sau sub formă de soluție Lugol, administrată intravenos, în doze progresive (ca la actinomicoză). De asemenea se mai poate administra penicilină, streptomicină, sulfamide, stilbamină, sulfarsenobenzol.

GENUL HISTOPLASMA

Cuprinde ciuperci de forma unor corpusculi rotunzi sau ovalari, de 1—4 microni diametru, avînd o capsulă groasă ce se colorează intens prin metoda Gram, ce parazitează citoplasma celulelor macrofage ale sistemului reticuloendotelial sau sînt libere în țesuturi, caz în care au o capsulă mult mai groasă.

Specia tip este *Histoplasma capsulatum.*

HISTOPLASMA CAPSULATUM

Sinonimie. *Cryptococcus capsulatus*, *Sepedonium sp.*, *Posadasia piriformis*, *P. capsulata.*

Morfologie. La examenul direct al sputei, puncției biopsice etc., ciuperca poate apărea fie sub formă filamentoasă, cu filamente miceliene subțiri de 2—2,5 microni diametru, care poartă chlamidospori echinulați, prinși cu ajutorul unui pedicul, fie sub formă levurică, ca niște blastospori, de obicei sferici sau ovoizi, de 2—4 microni diametru, cu înmugurire unipolară, avînd frecvent și o vacuolă mare vizibilă la microscop (fig. 349).

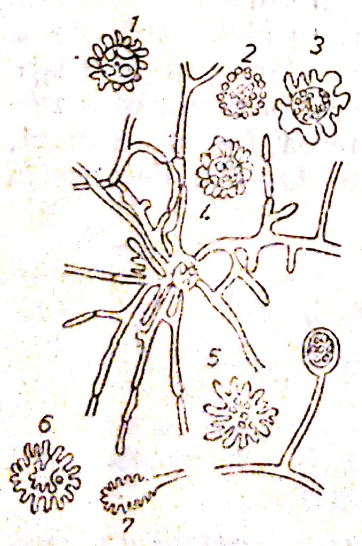


Fig. 349 : Histoplasma capsulatum :

(1—7) aleurii mari echinulate (după Moore, parțial, în Brumpt, 1949).

Culturi. Crește relativ ușor pe medii zaharate, azotate sau cu sînge, în semianaerobioză, obținîndu-se colonii albe pufoase cu tendință la virarea culorii spre brun pe mediile zaharate și colonii netede, umede, strălucitoare, de culoare albă pe mediile azotate. La temperatura camerei, ciuperca se dezvoltă sub formă filamentoasă iar la +37°C, sub formă de levură. Această ciupercă se poate inocula la majoritatea animalelor de laborator. Inoculată intraperitoneal la șoarece, provoacă acestuia infecție generalizată și moartea, în 20—40 zile.

Rol patogen. Provoacă histoplasmoza (boala lui Darling), prin localizarea și dezvoltarea ciupercii, în principal, în celulele sistemului reticulohistiocitar (citomicoză reticulohistiocitară). Se manifestă clinic diferit: ca boală generală de tip septic, cu febră neregulată, fenomene pulmonare, hipertrofie a ficatului, splinei și ganglionilor limfatici și anemie; ca formă în care predomină hiperplazia țesutului limfoid; ca formă pulmonară, cu localizare pleuropulmonară, care se manifestă cu febră, tuse, hemoptizii, dispnee, durere toracică, transpirații nocturne, stare de adinamie, pierdere în greutate, simptome însoțite și de leucopenie, limfocitoză relativă, hepatosplenomegalie și poliadenopatie, iar uneori și de fenomene alergice (eritem nodos); formă cu leziuni ulcerative situate pe tegumente și mucoase (ulcerații bucale, faringiene, gastrointestinale etc.).

Diagnostic. Se precizează prin cultivarea ciupercii din spută și mai ales din măduva osoasă, puncție splenică sau hepatică. De asemenea se poate folosi intradermoreacția la histoplasmină, precum și reacția de fixare a complementului, folosindu-se ca antigen histoplasmina sau histoplasme în faza lor levuriformă.

Prognostic. Evoluția bolii este gravă, cu cașexie progresivă. Afecțiunea se poate confunda cu tuberculoza pulmonară, sarcoidoza, mononucleoza infecțioasă, bruceloza, malaria, leishmanioza, boala Hodgkin etc.

Tratament. Este dificil. Se obțin rezultate uneori cu nistatină (care are acțiune numai locală), asociată cu amphotericina B, administrată în perfuzii, intravenos, cîte 0,5—1 mg pe kilocorp, zilnic, timp de 4—8 săptămîni.

FAMILIA DEMATIACEAE

Cuprinde ciuperci care au conidiofori și conidii de culoare neagră. În această familie sînt incluse genurile *Alternaria*, *Helminthosporium* și altele.

GENUL ALTERNARIA

În acest gen sînt incluse ciupercile cu filamente miceliene septate, de culoare neagră ca funinginea, cu sporofori izolați sau în buchete, scurți, septați, ridicați în sus și în general neramificați, cu conidii în formă de măciuci răsturnate, în general cu vîrful alungit, cu pereți septați la partea inferioară, reuniți în lanțuri, în general simple, mai mult sau mai puțin lungi. Specia tip este *Alternaria tenuis*.

ALTERNARIA TENUIS

Sinonimie. *Phoma hominis*, *Epidermophyton nigricans*.

Morfologie. Pe preparate microscopice, ciuperca se prezintă sub forma de filamente miceliene septate, incolore, cu conidiofori simpli sau ramificați, ce poartă lanțuri de conidii alungite sau piriforme, de culoare brună, cu septuri transversale și longitudinale (fig. 350).

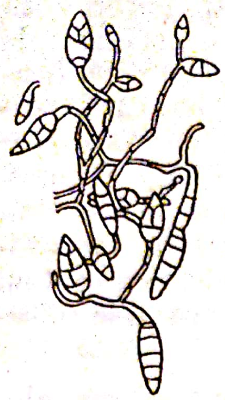


Fig. 350: *Alternaria sp.*
(schemă parțială după *Langeron*, în Brumpt, 1949).

Culturi. Pe mediul Sabouraud sau Czapek, se obțin colonii de culoare albă la început, devenind apoi de culoare gri-verzuie iar mai tîrziu brună, colonii în care iau naștere formații globuloase brune (*picnide*), pline cu spori alungiți de 2,5/12,5 microni mărime.

Rol patogen. Speciile genului *Alternaria* se găsesc din abundență, ca și *Penicillium*, în praful laboratoarelor, unde poluează frecvent culturile, precum și în natură, răspîndite pe numeroase vegetale. Sporii acestei ciuperci au fost depistați în spută și în țesutul pulmonar la cîteva cazuri de tuberculoză, la un caz de granulom al piciorului, la un caz cu o dermatomicoză a mîinii, la unul cu onichomicoză etc. (autori citați de Brumpt). Ilieș M. și colab. (Iași), depistează *Alternaria tenuis Nels*, într-o crustă recoltată de pe corneea unui bolnav de keratită în urma traumatizării cu o frunză uscată de porumb (pe care parazitul se găsește în mod obișnuit).

FAMILIA TUBERCULARIACEAE

Cuprinde ciuperci care au forme de rezistență rezultate prin împletirea filamentelor miceliene în care se dezvoltă organele de fructificație (stroma conidifer). Din această familie, interesează medicina, genul *Fusarium*.

GENUL FUSARIUM

Se caracterizează prin sporofori diferențiați sub formă de ramuri simple sau ramificate și conidii tipic falciforme, septate, terminale sau laterale, hialine sau roșcate (fig. 351).

Se cunosc 64 specii de *Fusarium*, cu 79 varietăți și 38 forme (monografia lui Wollenweber, 1931, în Brumpt). Specia tip este *F. roseum*.

Rol patogen. Ciupercile din genul *Fusarium* fac parte, împreună cu alte genuri (*Trichoderma*, *Cephalosporium* etc.), din grupa ciupercilor contaminante și, așa cum remarcă Brumpt, citînd și pe alți autori între care și pe J. Guiart, nu le atribuie acestora nici un rol patogen, cu toate că unele specii au fost izolate în diferite boli ca de exemplu *F. moronei* într-un caz de onichomicoză umană, *F. ponceti* într-un caz de botriomicom și *Fusariopsis derrieni* (o ciupercă vecină genului *Fusarium*) în două cazuri de angină difteroidă micozică (autori citați de Brumpt).

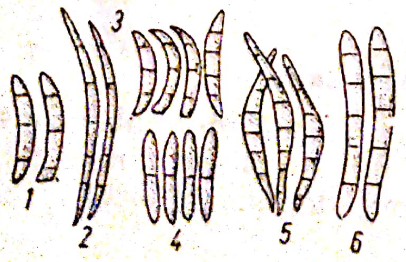


Fig. 351: Macroconidii de tip *Fusarium*:
1, *F. solani*; 2, *F. subulatum*; 3, *F. discolor*; 4, *F. didymum*; 5, *F. gibbosum*; 6, *F. willkommii* (după *Appel* și *Wollenweber*, 1913, din Gaümann, în Langeron, 1945).

Tabelul 136

Metode de profilaxie antiinfecțioasă

Scop general	Practici				Eficiență în:
PROFILAXIE SPECIFICĂ IMUNOLOGIC	Imunizare	vaccinoprofilaxie (v. tabel 34) seroprofilaxie (seruri imune)	antigangrenos antitetanic antibotulinic antidifteric		
PROFILAXIE NESPECIFICĂ	1. Asigurarea apei potabile și de spălare cu debit continuu în toate centrele populate:				toate infecțiile
	2. Protecția mediului extern de contaminarea cu patogeni	Măsuri de igienă comunală	aer	evitarea aglomerațiilor în cămine, săli de așteptare, vehicule de transport public etc.	ITRS și ITRI, bacteriene și virale
				batista de hîrtie și educație sanitară privind utilizarea	TBC
			apă	evacuare corectă a apelor fecalo-menajere (canalizare); WC-uri numeric suficiente în cămine, cazărmi, școli de toate gradele, întreprinderi, instituții, și publice;	ITU, ITD
			sol	evacuare și tratare corectă a gunoiului menajer; latrine cu autopurificare la sate, la fiecare locuință, școli, instituții;	ITD, bacteriene, virale, parazitare; reducere continuă a anaerobilor sporulați;
				batista de hîrtie:	TBC pulmonar;
			alimente	control igienico-sanitar în sectorul zootehnic industrial; control microbiologic al purtătorilor periculoși din sector alimentar; veselă degresată, uscată, decontaminată-sterilizată, în cantine-restaurante;	intoxicații, toxiinfecții și infecții alimentare;
			distrugerea vectorilor	deratizare	ciumă, leptospiroză, tularemie;
				dezinsecție	tifos exantematic, febră recurentă, malarie, arboviroze
				dezmuștizare:	ITD, enterobacterioze „ viroze, „ parazitoze etc.
		Măsuri de igienă în sectoarele zootehnice	zooigienă	deratizare, dezmuștizare, dezinsecție, evacuarea corectă a gunoiului, apă,	infecții și toxiinfecții alimentare, zoonoze.
			vaccinare		v. tabel vaccinuri animale);
			sacrificare:		rabie, morvă, TBC etc.
		igiena personală (apă și săpun)	igiena tegumentelor	baie zilnică cu corectă spălare a ochilor, comisurilor bucale, conductului auditiv extern, vestibul nazal, regiuni piloase, mucoase genitale externe; evitarea escoriațiilor prin grataj;	infecții cutanate (micoze, bacterioze);
			igiena părului	spălarea bisăptămînală cu apă și săpun sau detergenți;	micozele părului, stafilococia cutanată
			igiena bucodentară faringiană	periajul dinților cu pastă și gargara cu apă, după fiecare masă și la culcare	carii și parodontopatii,

					zoonoze.
PROFILAXIE *NESPECIFICĂ*		sectoarele zootehnice	vaccinare		v. tabel vaccinuri animale);
			sacrificare :		rabie, morvă, TBC etc.
	3. Autoprotecția *	igiena personală (apă și săpun)	igiena tegumentelor	baie zilnică cu corectă spălare a ochilor, comisurilor bucale, conductului auditiv extern, vestibul nazal, regiuni piloase, mucoase genitale externe ; evitarea escoriațiilor prin grataj ;	infecții cutanate (micoze, bacterioze) ;
			igiena părului	spălarea bisăptămînală cu apă și săpun sau detergenți ;	micozele părului, stafilococia cutanată
			igiena bucodentară faringiană	periajul dinților cu pastă și gargară cu apă, după fiecare masă și la culcare	carii și parodontopatii, faringite ;
			igiena intimă	folosirea bidet-ului după fiecare scaun, folosirea bidet-ului după contact sexual ;	ITU ITS
			igiena mîinilor	spălare (apă, săpun, perie de unghii) după fiecare utilizare a WC-ului, bidet-ului, după spălarea vestibulului nazal și înainte de fiecare masă ; folosirea batistei de hîrtie ;	enteroviroze ,, bacterioze ,, parazitoze
		igiena locuinței		evitarea aglomerațiilor, răcelii, umezelii, prafului, tutunului ;	ITRS și ITRI
				grup sanitar dotat cu WC, bidet, chiuvetă, duș ; mașină de spălat rufe ; educație sanitară privind : corecta spălare, cu decontaminare a veselei, lenjeriei, a pardoselelor, îndepărtare a prafului ; dezmuștizare ; evacuarea zilnică a gunoiului ;	ITU ITG (mai ales la femei) MTS, la bărbat și femeie. ITD, enteroviroze, — bacterioze, — micoze
		evitarea : aglomerațiilor, răcelii, tutun, alcool, praf, umezeală.			ITR
		igiena alimentului		alimente corect tratate termic ; vegetale (fructe, salate) foarte bine spălate în zone endemice (de holeră, febră tifoidă) consum de apă fiartă.	intoxicații, toxiinfecții și infecții alimentare, infecții hidrice ;
	4. Antibioticoprofilaxie	respectarea indicațiilor medicale de antibioticoprofilaxie ;			
		profilaxia infecțiilor cu S. pyogenes A secundară și primară ;			CR, RAA, GNA
		,, meningitei cerebrospinale epidemice ;			
		,, tuberculozei la sugarul născut din mamă cu TBC			

BIBLIOGRAFIE

1. ANSEL M. : *Mycoses et champignons parasites de l'homme*. 1957, G. Doin et Cie Éd., Paris.
2. BRUMPT E. : *Précis de parasitologie*, 1949, Masson et Cie Éd. Paris.
3. BULLA AL., GOLĂESCU MARIA, MOLAN MARIA : *Micoze viscerale*; 1964, Ed. medicală, Bucureşti.
4. CONU A. ; *Dermatovenerologie*, 1970, Ed. didactică şi pedagogică, Bucureşti.
5. EVOLCEANU R., AVRAM A., ALTERAŞ I., ROXIN T. : *Dermatomicoze*. 1956, Ed. medicală, Bucureşti.
6. EVOLCEANU R., AVRAM A., ALTERAŞ I., BĂLUŞ L. : *Candidoze*. 1961, Ed. medicală, Bucureşti.
7. GOLVAN J.Y., DROUHET E. : *Techniques en parasitologie et en mycologie*. 1972, Flammarion Médecine-Sciences, Paris.
8. ILIEŞ M., VAIGHEL VERONICA, JALOBCEASTAI L. *International Symposium of Medical Mycology, Abstracts of Papers*. Bucharest, September 20—22, 1977, p. 81.
9. JUCOVSCHI M.P. : *Botanica*. 1953, Ed. de Stat pentru literatură ştiinţifică, Bucureşti
10. LANGERON M. : *Précis de mycologie*. 1945, Masson et Cie Éd., Paris.
11. MITROIU P. : *Micoze şi micotoxicoze la animale*. 1976, Ed. Ceres, Bucureşti.
12. VANBREUSEGHEM R. : *Guide pratique de mycologie médicale et vétérinaire*. 1966, Masson et Cie Éd., Paris.
13. ZARNEA G. : *Microbiologie generală*. 1970, Ed. didactică şi pedagogică, Bucureşti.

BIBLIOGRAFIE

MANUALE ŞI TRATATE

1. BAILEY W. R., SCOTT E. G.: *Diagnostic Microbiology*. C. V. Mosby Co., St. Louis, 1974.
2. BAKER F. J., BREACH M. R.: *Handbook of Bacteriological Technique*. Butterworths, London, 1967.
3. BALŞ M. G.: *Imunofluorescenţa şi aplicaţiile ei în inframicrobiologie*. Edit. Acad. R.S.R., Bucureşti, 1966.
4. BEDSON H. S. (Ed.): *Third International Congress for Virology*. Madrid, 10—17 sept. 1975, Abstracts.
5. BENENSON A. S. (Ed.): *Control of Communicable Diseases in Man*. 11th Ed., An Official Report of the American Public Health Association, APHA, 1970.
6. BLAIR J. E., LENNETTE E. H., TRUANT J. P. (Eds.): *Manual of clinical microbiology*. Am. Soc. Microbiol., Washington, 1974.
7. BONNET H., NEVOT A., NEVOT P.: *Travaux pratiques de bactériologie médicale*. Ed. Masson et C., Paris, 1964.
8. BUCHANAN R., E. GIBBONS N. E. (Co-Eds.): *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 8th Ed., Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1974 Rep. 1975.
9. BURROWS W., MOULDER J. W., LEWERT R. M.: *Textbook of Microbiology*. 18th Ed., Saunders Co., Philadelphia-London, 1964.
10. BUTTIAUX R., BEERENS H., TACQUET A.: *Manual de Techniques Bactériologiques*, III-e Ed., Ed. Flammarion, Paris, 1969.
11. CONSTANTINESCU N. M., CAJAL N., FODOR O., ZAVATE O.: *Hepatita virală*. Edit. Acad. R.S.R., Bucureşti, 1971.
12. COWAN S. T., STEEL K. L.: *Manual for the Identification of Medical Bacteria*. Univ. Presse, Cambridge, 1966.
13. CRUICKSHANK R.: *Medical Microbiology. A Guide to the Laboratory Diagnostic and Control of Infection*. 12th Ed., E. & S., Livingstone Ltd., Edinburg-London, 1973.
14. DAVIS B. D., DULBECCO R., EISEN H. N., GINSBERG H. S., WOOD W. B.: *Microbiology*, Harper-Row, 1970.
15. DRĂGĂNESCU N., CAJAL N.: *Encefalite şi encefalopatii virale cu evoluţie lentă*. Edit. Acad. R.S.R., Bucureşti, 1974.
16. DUBOS R. J., HIRSCH J. G.: *Bacterial and Mycotic Infections of Man*. 4th Ed., Lippincott Co., Philadelphia, 1965.
17. DUCA E.: *Microbiologie medicală*, Ed. didactică şi pedagogică, Bucureşti, 1974.
18. DUCA M.: *Inframicrobiologie*. Edit. didactică şi pedagogică, Bucureşti, 1965.
19. DUMAS J.: *Bactériologie médicale*, Ed. Flammarion, Paris, (revizuit 1977).
20. GAVRILOV B. I., SEMENOV B. F., JDANOV V. M.: *Hroniceskie virusnîie infecţii i ih modelirovanie*. „Mediţina", Moscova, 1974.
21. GIBBS B. M., SKINNER F. A.: *Identification Methods for Microbiologist*. Acad. Press, London-New York, 1966.
22. GILLIES R. R., DODDS T. C.: *Bacteriology Illustrated*. E & S. Livingstone Ltd., Edinburgh-London, 1965.

23. HARPER H. A.: *Review of Physiological chemistry*, Twelfth Edition, Lange Med. Publ., Los Altos, California, 1969.
24. HOEPRICH P. D. (Ed.): *Infectious Diseases*. Harper-Row, 1972.
25. HORSFALL F. L., Jr., TAMM I.: *Viral and Rickettsial Infections of Man*. J. B. Lippincott, Co., Philadelphia, 1965.
26. HOWARD L. B., UPDYKE E. L., MASSON J. O.: *Diagnostic Procedures for Bacterial, Mycotic and Parasitic Infections*. Am. Publ. Health Association, Inc. Publ., 1970.
27. JAWETZ E., MELNICK J. L., ADELBERG E. A.: *Review of Medical Microbiology*, 10th Ed., Blackwell Sci. Publ., Oxford-Edinburgh, 1972.
28. KAPLAN A. S. (Ed.): *The Herpesviruses*. Acad. Press, New York, 1973.
29. KAUFFMANN F. M. D.: *The Bacteriology of Enterobacteriaceae*. Munksgaard, Copenhagen, 1966.
30. KILBOURNE E. D. (Ed.): *The Influenza Viruses and Influenza*. Acad. Press, New-York, 1975.
31. LENNETTE E. H., SCHMIDT N. J. (Eds.): *Diagnostic Procedures for Viral and Rickettsial Infections*. Amer. Publ. Hlth. Ass., Inc., New York, 1969.
32. MARMOROSCH K., KOPROWSKI N. (Eds.): *Methods in Virology*. Acad. Press., New York, 1971.
33. MEISSNER G., SCHMIEDEL A.: *Mykobacterien und mykobakterielle Krankheiten*. Veb. G. Fischer Verlag, Jena, 1967.
34. MOUSTARDIER G.: *Bactériologie Médicale*. Librairie Maloine Paris, 1972.
35. MUREŞAN P.: *Metode matematice în clinică, laborator şi ocrotirea sănătăţii*. Ediţia a IIa, Edit. medicală, Bucureşti, 1976.
36. NICOLAU ST. S., NASTAC E.: *Virusuri şi tumori*. Edit. Acad. R.S.R., Bucureşti, 1968.
37. PREVOT A. R., TURPIN A., KAISER P.: *Les bactéries anaérobies*. Dunod, Paris, 1967.
38. PRIER J. E. (Ed.): *Basic Medical Virology*. Williams & Wilkins, Co., Baltimore, 1966.
39. REMINGTON J. S., KLEIN J. O. (Eds.): *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant*. W. B. Saunders, Co., Philadelphia, 1976.
40. RIEGER R., MICHAELIS A., GREEN M. M. (Eds.): *Glossary of Genetics and Cytogenetics. Classical and Molecular*. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena, 1976.
41. ROSENFELD M. G. (Ed.): *Manual of Medical Therapeutics*. 20th Ed., Little. Brown & Co., Boston, 1971.
42. SENEZ J. C.: *Microbiologie générale*. Éd. Doin Deren et Co., Paris, 1968.
43. SJÖSTRAND F. S.: *Electron Microscopy of Cells and Tissues*. Acad. Press, New York, 1967.
44. STANIER R. Y., DOUDOROFF M., ADELBERG ED. A.: *Microbiologie générale*, Ed. Masson, Paris, 1966.
45. STOKES E. J.: *Clinical Bacteriology*. 3rd Ed., E. Arnold, London, 1968.
46. STUGREN B.: *Ecologie generală*. Edit. didactică şi pedagogică, Bucureşti, 1975.
47. SWAIN R. H. A., DODDS T. C.: *Clinical Virology*. E. & S, Livingstone, Edinburgh, 1967.
48. THOMPSON, LA VERNE R.: *Microbiology and Epidemiology*, 4th Ed., W. B. Saunders Co., Philadelphia-London, 1958.
49. UMBREIT W. W.: *Modern Microbiology*. Freeman and Co., San Francisco-London, 1962.
50. VYAS G. N., PERKINS H. A., SCHMID R.: *Hepatitis and Blood Transfusion*. Grune & Stratton, New York, 1972.
51. WOLSTENHOLME G. E. W., O'CONNOR M. (Eds.): *Interferon. Symposium Dedicated to Alick Isaacs, F. R. S.*, J. & A. Churchill, Ltd., London, 1968.
52. WILLMER E. N.: *Cells and Tissues in Culture. Methods, Biology and Physiology*. Acad Press, New York, 1965.

53. WILSON G. S., MILES, A. A.: *Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity*. 5th Ed., E. Arnold, Ltd., London, 1966.

54. WORLD HLTH ORG.: *Les Centres O.M.S. de Référence pour les virus. Activités et services assurés*. Org. Mond. Santé, Génève, 1968.

55. WORLD HLTH ORG.: Biological Substances: *International Standards Reference Preparations, and Reference Reagents, 1977*. W.H.O., Geneva, 1977.

56. WORLD HLTH ORG., TECHN. REP. SER. Nr. 570: *Viral Hepatitis*, W.H.O., Geneva, 1975.

57. WORLD HLTH ORG., TECHN. REP. SER. Nr. 602: *Advances in Viral Hepatitis*. W.H.O., Geneva, 1977.

58. ZARNEA G.: *Microbiologie generală*. Ed. didactică şi pedagogică, Bucureşti, 1970.

CĂRŢI ŞI MONOGRAFII CONSULTATE PENTRU CAPITOLE DE IMUNOLOGIE ŞI IMUNOPATOLOGIE

1. BOYD W. C.: *Fundamentals of immunology*, 4-th Ed., Interscience Publ., London, 1966.

2. BUNDSCHUH G., SCHNEEWEISS B.: *Immunologie, ein Nachschlagwerk*, Akademie Verlag, Berlin. 1976.

3. CIBA Foundation Symposium 18 (new series): *Immunopotentiation*, Elsevier, Amsterdam, 1973.

4. DUMONDE D. C. (Ed.): *The Role of Lymphocytes and Macrophages in the Immunological Response*, Springer-Verlag, Berlin, 1971.

5. FRIEMEL H. (Ed.): *Immunologische Arbeitsmethoden*, VEB Gustav Fischer, Verlag, Jena, 1976.

6. GELL P. S. H., COOMBS R. R. A., LACHMANN P. J.: *Clinical Aspects of Immunology*, Third Ed., Blackwell Sci. Publ., Oxford-Edinburgh, 1975.

7. GHEŢIE V., MICUŞAN V.: *Analiza imunochimică*, Ed. Acad. R.S.R., Bucureşti, 1966.

8. HUMPHREY J. H., WHITE R. G.: *Immunology for Students of Medicine*, Blackwell Sci. Publ., Oxford-Edinburgh, 1970.

9. KABAT E. A., MAYER M. M.: *Experimental Immunochemistry*. Second ed., Ch. Thomas, Springfield, Ill., 1961.

10. KWAPINSKI J. B.: *Methods of Serological Research*. J. Wiley and Sons., New York-Sidney, 1965.

11. MESROBEANU I., BERCEANU ST.: *Imunologie şi imunopatologie*, Ed. medicală, Bucureşti, 1968.

12. MIESCHER P. A., MÜLLER-EBERHARD H. J. J.: *Textbook of Immunopathology*. Grune-Stratton, New York-London, 1969.

13. POZSGI N., GHYKA GR.: *Imunogenetica*, Ed. Acad. R.S.R., Bucureşti, 1974.

14. RAJKA E., KOROSSY S.: *Immunological Aspects of Allergy and Allergic Diseases*, Akadémiai Kiadó, Budapest, 1974.

15. ROITT I.: *Essential Immunology*, Blackwell Sci. Publ., Oxford-Melbourne, 1972.

16. ROSE N. R., FRIEDMAN H.: (Eds.): *Manual of Clinical Immunology*. Amer. Soc. Microbiol., Washington, D.C., 1976.

17. SAMTER M. (Ed.): *Immunological Diseases*. Little Brown and Comp., 1971.

18. SELL S.: *Immunology, Immunopathology and Immunity*. Second Edition, Harper & Row, Publ., Hagerstown, S.U.A., 1975.

19. TURK J. L.: *Immunologie médicale*, Ed. Masson, 1971.

20. WEIR D. M. (Ed.): *Handbook of Experimental Immunology*. Blackwell Sci., Publ., Oxford-London, 1973.

ERATĂ

Pag.	Rînd	În loc de:	Se va citi:
14	12 de jos	antitoxina	anatoxina
149	Exemplele date în rîndurile 9 și 10 de jos se inversează cu cele din rîndurile 1 și 2 de jos		
180	13	alfatoxine	aflatoxine
217	5	deficiențe proteino-calorice	deficiente proteino-caloric
335	7 și 8	gama — și nehemolitice	nehemolitice
339	3 de jos	1/400	1/4000
392	5	nu produce	produce
522	tabel coloana 5	i.v.	s.c.
568	12—13 de jos	spirochetoze, aviare	spirochetoza aviară
611	1	genului	genomului
612	Tabel, coloanele 6, 7 și 8, rîndul 3 de jos	Mențiunile ,,D, 10, c, 15, om" se vor citi în dreptul rîndului ,,Reovirus"	
678	Tabel coloana 5	Exemplul ,,Reovirus" se va citi în dreptul rîndului ,,Model de strategie V"	
785	11	inițial	iniția

c. 73 **Microbiologie medicală**

Plan editură Nr. 5609
Coli de tipar 60,50
Bun de tipar 14 XII. 1979.

C. 73 — I. P. INFORMAȚIA
str. Brezoianu nr. 23—25,
București